

Obtención de híbridos interespecíficos de berenjena con especies silvestres relacionadas

M. Plazas, S. Vilanova, I. Andújar, P. Gramazio, A. Rodríguez-Burruezo, E. Moreno, M.D. Lerma, A. Fita, F.J. Herraiz, J. Prohens

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

Palabras clave: *Solanum melongena*, hibridación, introgresión, mejora genética, germoplasma

Resumen:

Los cultivares modernos de berenjena (*Solanum melongena*) presentan una estrecha base genética. Hasta el momento la utilización de la variación presente en especies relacionadas ha sido poco utilizada en la mejora genética de este cultivo. Con objeto de contribuir al incremento de la variación disponible para los mejoradores, hemos realizado cruzamientos interespecíficos entre seis variedades de berenjena y 21 accesiones de materiales silvestres correspondientes a 13 especies con diferentes grados de relación filogenética con la berenjena. Los materiales silvestres incluyen especies del germoplasma primario (*S. incanum* y *S. insanum*), secundario (*S. anguivi*, *S. campylacanthum*, *S. dasyphyllum*, *S. lichtenstenii*, *S. linnaeanum*, *S. pyracanthum*, *S. tomentosum* y *S. violaceum*), y terciario (*S. elaeagnifolium*, *S. sisymbriifolium* y *S. torvum*). Se realizaron 1484 cruzamientos, utilizándose preferentemente *S. melongena* como parental femenino. Los frutos cuajados se recolectaron en la madurez fisiológica, excepto para los realizados con especies del germoplasma terciario, en que se realizó rescate de embriones a partir de frutos en desarrollo. Se obtuvo semilla híbrida entre una o más de las accesiones de berenjena y todas las especies silvestres del germoplasma primario y secundario, excepto *S. campylacanthum*, con un total de 56 combinaciones híbridas distintas. En el caso del germoplasma terciario, no se obtuvo cuajado en los cruzamientos con *S. elaeagnifolium*, mientras que en los realizados con *S. sisymbriifolium* se observó aborto de embriones. En cambio, fue posible obtener plántulas híbridas tras rescate de embriones al cruzar una de las accesiones de berenjena con dos de las accesiones de *S. torvum*. Los materiales obtenidos representan el punto de partida para la introgresión de caracteres deseables de las especies silvestres en el fondo genético de la berenjena cultivada, así como para ampliar la base genética del cultivo.

INTRODUCCIÓN

La berenjena (*Solanum melongena* L.) presenta una estrecha base genética, en particular los cultivares modernos (Muñoz-Falcón et al., 2009). Al contrario que en otros cultivos hortícolas como el tomate (Díez y Nuez, 2008), la utilización de especies silvestres en la mejora genética de la berenjena ha sido muy limitada, a pesar de que es posible obtener híbridos interespecíficos con un importante número de especies relacionadas (Rotino et al., 2014).

Las especies silvestres relacionadas con la berenjena presentan una diversidad genética mucho mayor que la especie cultivada (Vorontsova et al., 2013) y en ellas se

encuentran fuentes de variación para resistencia a estreses bióticos y abióticos, altos contenidos en compuestos bioactivos, etc. (Daunay y Hazra, 2012). Es por ello que hemos iniciado un programa de hibridación interspecífica de berenjena cultivada con un amplio número de especies relacionadas de los germoplasmas primario, secundario y terciario. El objetivo es conseguir introgresiones de materiales silvestres en el fondo genético cultivado que permitan obtener materiales de berenjena mejorados con tolerancia a estreses.

MATERIAL Y MÉTODOS

Como parentales cultivados se utilizaron seis accesiones de berenjena (MEL1-MEL6) de diferentes orígenes (Costa de Marfil y Sri Lanka) y con diferentes características morfológicas, incluyendo diferentes formas, tamaños de fruto, y colores (blanco, verde, morado). Los materiales silvestres fueron 21 accesiones correspondientes a 13 especies silvestres del germoplasma primario (*S. incanum* (1) y *S. insanum* (3)), secundario (*S. anguivi* (2), *S. campylacanthum* (2), *S. dasyphyllum* (1), *S. lichtensteinii* (2), *S. linnaeanum* (2), *S. pyracanthos* (1), *S. tomentosum* (1) y *S. violaceum* (1)), y terciario (*S. elaeagnifolium* (1), *S. sisymbriifolium* (2) y *S. torvum* (2)).

Las plantas se cultivaron en invernadero en Valencia, con más de 15 plantas para cada una de las accesiones de *S. melongena* y al menos 5 plantas para cada una de las accesiones silvestres. El trasplante se realizó en abril de 2014 y los cruzamientos se realizaron entre junio y octubre de 2014. Los cruzamientos se realizaron por la mañana evitando las horas de mayor temperatura. Se realizaron cruzamientos recíprocos, aunque se priorizaron los cruzamientos en que *S. melongena* actuaba como parental femenino. Los frutos cuajados se recolectaron en la madurez fisiológica, excepto para los cruzamientos con las especies del germoplasma terciario en que se recogieron en estados tempranos de desarrollo para realizar rescate de embriones, para lo cual se utilizó el protocolo de Manzur et al. (2013). Se anotaron el número de cruzamientos realizados y número de frutos cuajados, así como la obtención de semilla híbrida. Una muestra de semilla híbrida de cada una de las combinaciones híbridas obtenidas utilizando *S. melongena* como parental femenino se puso a germinar y se registró la obtención de plántulas híbridas. Para aquellas combinaciones en que no se obtuvieron cruzamientos con *S. melongena* como parental femenino o no se obtuvo germinación se utilizó semilla en que la especie cultivada actuó como parental masculino.

RESULTADOS

Se han realizado un total de 1484 cruzamientos interspecíficos entre *S. melongena* y las 13 especies silvestres relacionadas utilizadas (Tabla 1). Un 81.6% de cruzamientos se han realizado utilizándose *S. melongena* como parental femenino y el 18.4% restante utilizándola como parental masculino. Los porcentajes globales de cuajado han sido mayores cuando se utiliza *S. melongena* como parental masculino (22.3%) que como femenino (9.2%). En conjunto el cuajado de frutos ha sido generalmente mayor en el caso de los cruzamientos con las especies del germoplasma primario (25.9%), que en las del secundario (12.0%), obteniéndose los menores valores de cuajado en los cruzamientos con las especies del germoplasma terciario (2.1%). A pesar de esta tendencia general, se observa que con algunas especies del germoplasma secundario (*S. anguivi*, *S. dasyphyllum* y *S. lichtensteinii*) se obtiene un nivel de cuajado de frutos similar al de las especies del germoplasma primario (Tabla 1). Sin embargo, con *S. campylacanthum* no se han conseguido híbridos con *S. melongena*, y con *S. pyracanthos* y *S. violaceum*, a pesar

de realizar numerosos cruzamientos, solo se obtuvo 1 fruto cuajado con cada una de ellas (Tabla 1). Con las especies del germoplasma terciario se consiguió cuajado de frutos, aunque con bajo porcentaje, con *S. sisymbriifolium* y *S. torvum* (Tabla 1).

En total se obtuvo semilla híbrida de un total de 56 combinaciones híbridas entre las seis accesiones de *S. melongena* y las 16 accesiones de especies silvestres del germoplasma primario y secundario con las que se pudieron realizar cruzamientos. En tres accesiones (de *S. insanum*, *S. anguivi* y *S. linnaeanum*) se obtuvieron híbridos con todas las accesiones de *S. melongena*, mientras que para otras tres accesiones (de *S. linnaeanum*, *S. pyracanthos* y *S. violaceum*) solo se consiguió obtener híbridos con una accesión de *S. melongena*. La germinación de semillas de híbridos interespecíficos entre *S. melongena* y especies del germoplasma primario y secundario fue, en general, regular, pudiéndose obtener plántulas híbridas entre *S. melongena* y todas con las que se obtuvo semilla (Tabla 1). En el caso de las especies del germoplasma terciario, los frutos obtenidos con *S. sisymbriifolium* como parental silvestre no contenían embriones viables, mientras que en los realizados con *S. torvum* se pudieron rescatar y cultivar embriones inmaduros, los cuales dieron lugar a plántulas viables.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos confirman que la berenjena es una especie con la que es factible obtener híbridos con muchas especies silvestres (Daunay y Hazra, 2012, Rotino et al., 2014). Tal como era de esperar, las tasas de éxito obtenidas en los cruzamientos han sido mayores en las especies filogenéticamente más cercanas (Vorontsova et al., 2013). No obstante, ha sido posible, utilizando técnicas rutinarias de cultivo de embriones (Manzur et al., 2013), obtener plantas híbridas con una especie silvestre del Nuevo Mundo (*S. torvum*), lo cual es de considerable interés ya que la berenjena común y sus especies relacionadas del germoplasma primario y secundario, son originarias del Viejo Mundo (Vorontsova et al., 2013). Esto sugiere que en berenjena es posible la obtención de híbridos sexuales con especies filogenéticamente muy separadas, lo cual es de gran interés para la mejora de este cultivo (Daunay y Hazra, 2012). Esta situación contrasta con lo observado en otras solanáceas cultivadas como el tomate, en que las posibilidades de cruzamiento sexual se limitan exclusivamente a las especies filogenéticamente más próximas (Díez y Nuez, 2008).

Los materiales obtenidos representan un primer paso para la ampliación de la base genética de la berenjena cultivada. El siguiente paso en el programa de mejora será el retrocruzamiento de los híbridos con los parentales cultivados. A este respecto, es de esperar que los híbridos con especies más alejadas presenten problemas de fertilidad (Rotino et al., 2014). En estos casos, para facilitar la obtención de plantas del primer retrocruzamiento se utilizarán los híbridos como parental femenino.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado como parte de la iniciativa “Adapting Agriculture to Climate Change: Collecting, Protecting and Preparing Crop Wild Relatives”, la cual es financiada por el Gobierno de Noruega. El proyecto está dirigido por Global Crop Diversity Trust (proyecto GS13044) junto con Millenium Seed Bank of the Royal Botanic Gardens, Kew e implementado en colaboración con bancos de germoplasma e institutos de mejora genética de todo el mundo. Para más información ver la página web del proyecto: <http://www.cwrdiversity.org/>. Los autores I. Andújar y P. Gramazio agradecen

a la Universidad Politécnica de Valencia la concesión de un contrato posdoctoral (I.A.) y predoctoral (P.G.).

Referencias

- Daunay, M.C. y Hazra, P. 2012. Eggplant, P. 257-322. En: K.V. Peter y P. Hazra (eds.), Handbook of vegetables. Studium Press, Houston, TX, USA.
- Díez, M.J. y Nuez, F. 2008. Tomato. P. 249-323. En: J. Prohens y F. Nuez (eds.), Handbook of plant breeding: Vegetables II. Springer, New York, USA.
- Manzur, J.P., Penella, C. y Rodríguez-Burruezo, A. 2013. Effect of the genotype, developmental stage and medium composition on the *in vitro* culture efficiency of immature zygotic embryos from genus *Capsicum*. Sci. Hort. 161:181-187.
- Muñoz-Falcón, J.E., Prohens, J., Vilanova, S. y Nuez, F. 2009. Diversity in commercial varieties and landraces of black eggplants and implications for broadening the breeders' gene pool. Ann. Appl. Biol. 154:453-465.
- Rotino, G.L., Sala, T. y Toppino, L. 2014. Eggplant. P. 381-409. En: A. Pratap y J. Kumar (eds.), Alien gene transfer in crop plants, volume 2: Achievements and impacts. Springer, New York, USA.
- Vorontsova, M.S., Stern, S., Bohs, L. y Knapp, S. 2013. African spiny *Solanum* (subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae): a thorny phylogenetic tangle. Bot. J. Linnean Soc. 173:176-193.

Tabla 1. Número de cruzamientos interespecíficos realizados entre seis variedades de berenjena común (*S. melongena*) y especies silvestres relacionadas del germoplasma primario, secundario y terciario, número de frutos cuajados, obtención de semillas de híbridos y germinación de las mismas. Se desglosan los datos según si *S. melongena* ha actuado como parental femenino o masculino.

Especies silvestres	<i>S. melongena</i> (parental femenino)				<i>S. melongena</i> (parental masculino)			
	Cruz. ^a	Frutos ^a	Semillas	Germ. ^a	Cruz. ^a	Frutos ^a	Semillas	Germ. ^a
Germoplasma primario								
<i>S. incanum</i>	33	6	Sí	Sí	4	1	Sí	Sí
<i>S. insanum</i>	175	31	Sí	Sí	51	17	Sí	Sí
Germoplasma secundario								
<i>S. anguivi</i>	68	10	Sí	Sí	32	11	Sí	Sí
<i>S. campylacanthum</i>	56	0	No	No	4	0	No	No
<i>S. dasyphyllum</i>	80	19	Sí	Sí	19	2	Sí	n.t. ^c
<i>S. lichtensteinii</i>	89	15	Sí	Sí	33	6	Sí	n.t. ^c
<i>S. linnaeanum</i>	106	9	Sí	No?	21	10	Sí	Sí
<i>S. pyracanthos</i>	179	0	No	No	19	1	Sí	Sí
<i>S. tomentosum</i>	34	4	Sí	Sí	25	8	Sí	Sí
<i>S. violaceum</i>	21	1	Sí	Sí	11	0	No	No
Germoplasma terciario								
<i>S. elaeagnifolium</i>	42	0	No	No	3	0	No	No
<i>S. sisymbriifolium</i>	207	0	No	No	44	5	No	No
<i>S. torvum</i>	121	4	Sí ^b	Sí	7	0	No	No

^aNúmero de cruzamientos (Cruz.) realizados, de frutos (Frutos) cuajados y germinación (Germ.) de la semilla híbrida.

^bPresencia de embriones viables en frutos inmaduros.

^cNo testado.