

# ¿Hablan japonés los castaños gallegos?

## Introgresión genética en el castaño del país

Beatriz Cuenca Valera<sup>1</sup>

M.V. González González<sup>2</sup>, M. López Rodríguez<sup>2</sup>, Y. Ferradas Rial<sup>2</sup>, L. González Simón<sup>1</sup>, M. Rey Fraile<sup>3</sup>

<sup>1</sup> TRAGSA. Vivero de Ourense. <sup>2</sup> Departamento de Fisiología Vegetal, Universidad de Santiago de Compostela. <sup>3</sup> Departamento de Biología Vegetal y Ciencia del Suelo, Universidad de Vigo.



### INTRODUCCIÓN

TRAGSA realizó en 2003 un selección de *Castanea sativa* en base a caracteres de resistencia a la tinta, con el objetivo de disponer de clones resistentes con mayor compatibilidad al injerto y mejor adaptación a las condiciones edafoclimáticas de Galicia que los híbridos artificiales.

Se seleccionaron individuos aparentemente resistentes en parcelas donde *C. sativa* era primera o segunda especie según el IFN, pero para mayor seguridad, en 2011 se puso a punto un método basado en marcadores moleculares tipo SSR para caracterizar la base genética de los genotipos resistentes (González et al., 2011).

Las identificaciones iniciales revelaron que prácticamente la totalidad de los árboles inicialmente seleccionados como resistentes, poseían alelos de especies asiáticas, por lo que se decidió ampliar la caracterización con los objetivos siguientes:

- ✓ Determinar si los 7 genotipos propuestos al CNMB son ejemplares puros de *C. sativa*, y si no lo son, determinar el porcentaje de alelos exclusivos de especies asiáticas que poseen en comparación con los híbridos artificiales.
- ✓ Contribuir a aclarar si el fenómeno de la introgresión de alelos de especies asiáticas afecta a *C. sativa* en toda la RIU1.
- ✓ Comprobar si los genotipos resistentes, por el hecho de serlo, tienen mayor componente asiático que el resto de genotipos de la misma localización, que no han sido seleccionados por resistencia.



Fuste y forma del clon C042 seleccionado por resistencia en el Concello de Zas

### MATERIAL VEGETAL

Se analizaron 38 genotipos:

7 genotipos seleccionados en la RIU1 de resistencia confirmada mediante test en condiciones controladas e incluidos en el CNMB recientemente: C003, C004, C042, C053, P011, P042 y P043

26 brinzales de semilla muestreados en las mismas parcelas que los 7 anteriores, 3-4 alrededor de cada uno de ellos, de los que desconocemos el nivel de resistencia

5 clones híbridos artificiales de *C. sativa* x *C. crenata*, tres de primera generación o F1 (CA-15, 90025 y 2671) y dos de segunda generación o F2 (HS y 111).

El material empleado fueron hojas jóvenes recogidas en campo (brinzales de semilla) o en invernadero (híbridos artificiales y clones resistentes).

### METODOLOGÍA

**Extracción** a partir de 100 mg de hojas jóvenes usando el DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). El análisis se realizó utilizando 9 loci de microsatélites previamente utilizados por nuestro grupo de investigación (González et al., 2011; Scientia Hort., 130: 459-467) (Tabla 1).

Los productos de las reacciones de amplificación se separaron en un secuenciador automático ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer y se analizaron con el software GeneMapper versión 3.7 (Applied Biosystems).

**Análisis de datos:** la distribución de la variación genética se representa gráficamente mediante análisis de correspondencia factorial (FCA) usando el software Genetix (Belhir et al. 1996), incluyendo accesiones de *C. crenata* y de *C. sativa* de 3 regiones de procedencia (RP2, RP4 y RP19) y de 12 clones de 7 cultivares tradicionales gallegos de fruto, como controles de especie.

Microsatélites	Referencia
KT015a	Yamamoto et al. 2003, Journal of Horticultural Science & Biotechnology 78:197-203.
EMCs14	Buck et al. 2003, Mol. Ecol. Notes 3: 239-241.
QpZag36, QpZag110	Steinkellner et al. 1997, Tree Genet. Genomes 6: 701-715.
CsCAT1, CsCAT3, CsCAT6, CsCAT14, CsCAT16	Marinoni et al. 2003, Molecular Breeding 11: 127-136.

### RESULTADOS

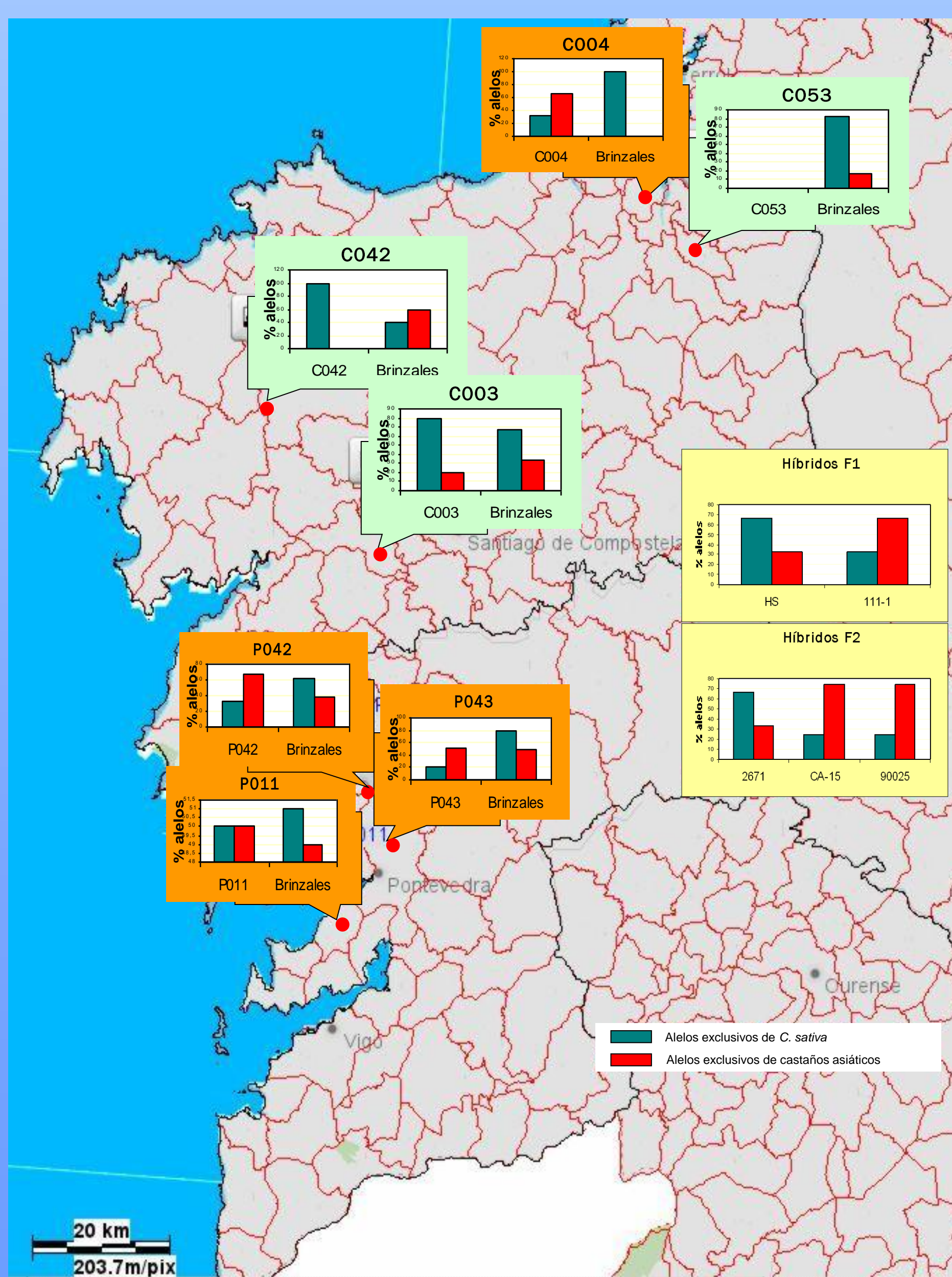


Figura 1. Localización geográfica de los 7 individuos resistentes y sus brinzales circundantes, y distribución de sus alelos exclusivos de *C. sativa* y de especies asiáticas, obtenida con los 9 loci de microsatélite ensayados. La distribución de alelos exclusivos de los híbridos artificiales también se recoge en el gráfico.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por la Xunta de Galicia (Expediente INCITE 09MRU016E).

Los individuos P043, P042, P011 y C004 muestran altos porcentajes de alelos exclusivos de especies asiáticas (50-80%) propios incluso de algunos híbridos artificiales. **gráficos naranjas de la Figura 1.**

C003 sólo presenta un 20% de alelos exclusivos asiáticos, y C042 y C053 no presentan alelos exclusivos de especies asiáticas en absoluto. C042 además presenta alelos exclusivos de *C. sativa*. **gráficos verdes de la Figura 1.**

Los brinzales de semilla de las parcelas muestreadas en la RIU1 presentan porcentajes medios de alelos asiáticos en valores similares (33-59%) a algunos híbridos, entre ellos HS. Sólo los brinzales de la parcela de Paderne (circundantes a C053) y los de la de Sada (circundantes a C004) presentan un componente asiático muy inferior (17% y 0% respectivamente).

La distribución tridimensional del FCA (Figura 2) muestra dos grupos principales, el de la especie japonesa y el de la europea, y en posición intermedia entre ambas, el grupo de los híbridos artificiales.

Todos los individuos seleccionados se colocan en el grupo de los híbridos, y también los brinzales de semilla, salvo los muestreados en torno a C053 y C004. C042 que no tiene componente asiático según el análisis de alelos exclusivos, es el clon que se coloca más próximo al grupo de *C. sativa* (Figura 2).

### CONCLUSIONES

- Existe una gran variación genética entre las parcelas muestreadas en la RIU1, algunas con individuos con un alto componente asiático, que los hace similares a los híbridos mientras que en otras el carácter *sativa* parece predominante.
- Los individuos seleccionados por resistencia parecen ser híbridos con componente genético de *sativa* en diferentes grados. El de menor componente asiático es C042, seguido de C053 y C003.
- El que los individuos resistentes se agrupen con los híbridos en el FCA y presenten alelos asiáticos exclusivos en algunos casos, apunta a la hibridación como fuente de resistencia, aunque ésta también es frecuente en genotipos no resistentes.
- Este trabajo revela la presencia de alelos asiáticos en los individuos muestreados en la RIU1. El porcentaje es en algunos casos muy inferior al de los híbridos artificiales por lo que sería conveniente disponer en el CNMB de una nueva acepción que podría denominarse *híbridos espontáneos de C. sativa Mill.*

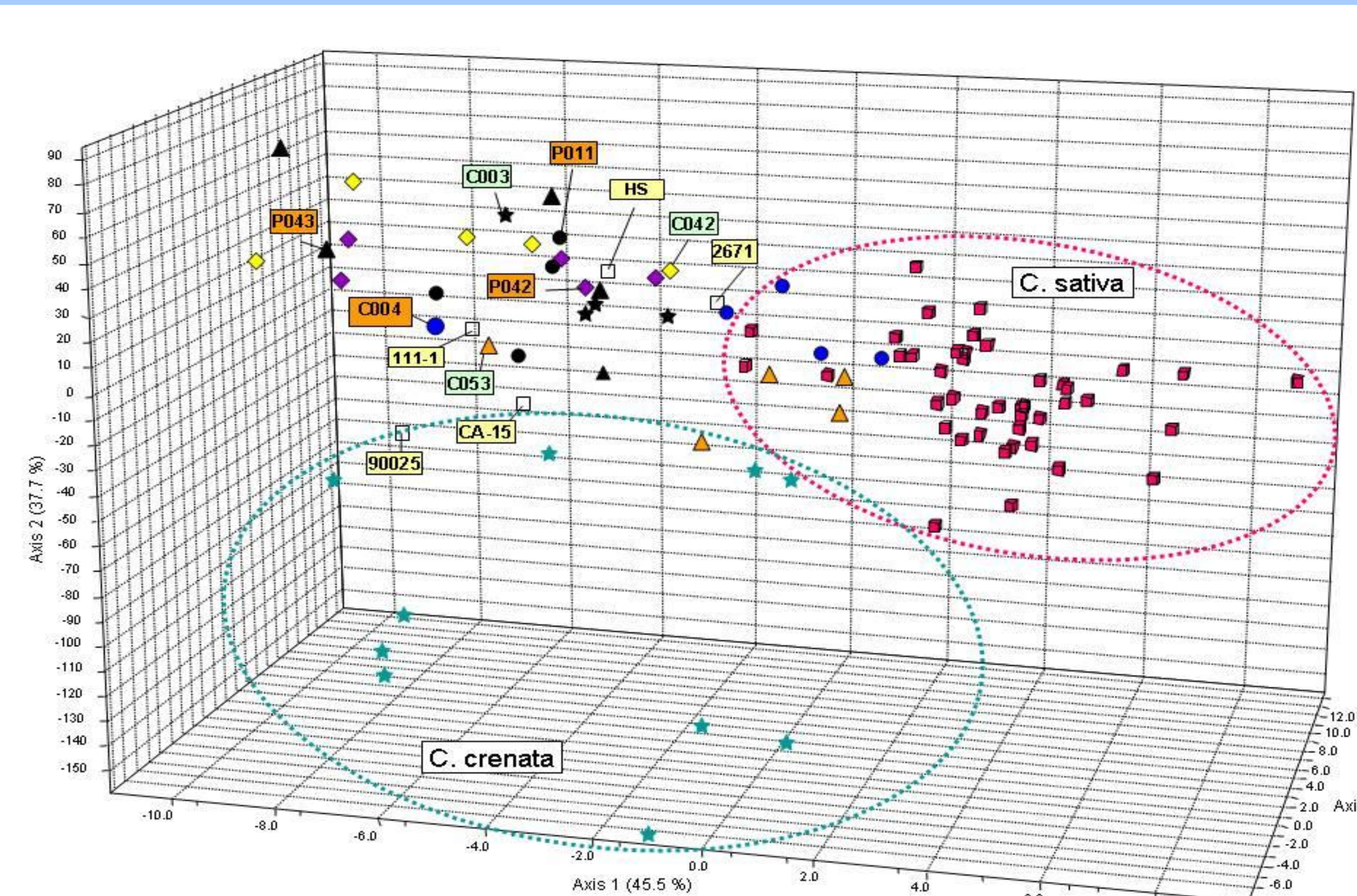


Figura 2. Análisis de correspondencia factorial (FCA) basado en datos de microsatélites de alelos tanto exclusivos como comunes. *C. crenata* *C. sativa* Híbridos artificiales P011 P042 P043 C003 C004 C042 C053 (y con el mismo código que el individuo resistente, sus brinzales circundantes).