

Determinación del nivel de ploidía en especies frutales mediante citometría de flujo

M.A. Moreno^{1*}; G. Reig¹; K.C. Fabiane²; F. Gainza³; Y. Gogorcena¹; M.P. Vallés⁴ y A.M. Castillo⁴

1 Departamento de Pomología, Estación Experimental de Aula Dei (CSIC), Apdo. 13034, Zaragoza 50080

2 Instituto Federal de Educación, Ciencia y Tecnología de Santa Catarina. UTFPR, Pato Branco (PR), Brasil

3 Centro de Estudios Avanzados en Fruticultura. INIA Rayentué, Rengo, Chile

4 Departamento de Genética, Estación Experimental de Aula Dei (CSIC), Apdo. 13034, Zaragoza 50080

Palabras clave: *Malus sp.*, *Prunus sp.*, híbridos inter-específicos, germoplasma, mejora

INTRODUCCIÓN

El conocimiento del nivel de ploidía y tamaño del genoma es un parámetro fundamental en los estudios genéticos y moleculares. Influye en aspectos básicos y aplicados relacionados con la organización del genoma, la relación entre especies, los análisis de expresión génica, el estudio de los recursos fitogenéticos y la mejora genética (Benett, 1984). Además, esta información es especialmente útil para estimar la compatibilidad somática y reproductiva en los programas de mejora que están basados en cruzamientos inter-específicos (Baird et al., 1994). Diferencias en el nivel de ploidía dan lugar a barreras genéticas que dificultan enormemente la obtención de híbridos inter-específicos en dichos cruzamientos.

En el programa de mejora de patrones *Prunus* de la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD-CSIC), se dispone de híbridos inter-específicos que incluyen en su genotipo especies pertenecientes a distintas secciones del género *Prunus* (*Euamygdalus* y *Prunophora*). Por otra parte, la EEAD-CSIC dispone de colecciones frutales incluidas en la Acción Estratégica de Conservación de los Recursos Genéticos de interés agroalimentario (INIA). Dichas colecciones contienen mayoritariamente variedades locales recogidas en las principales regiones productoras españolas, aunque también incluyen accesiones de otros países y centros de diversidad. La determinación del nivel de ploidía, tanto en los patrones *Prunus* en fases avanzadas de selección como de los recursos fitogenéticos disponibles en distintas especies, es un factor prioritario para su uso en los programas de mejora. Por ello, este trabajo tuvo como objetivo la determinación del nivel de ploidía de las distintas especies frutales de la familia de las Rosáceas incluidas en los bancos de germoplasma y/o programas de mejora de la EEAD-CSIC.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han caracterizado variedades e híbridos inter-específicos del género *Prunus* y *Malus*, utilizando como referencia variedades comerciales con nivel de ploidía conocido. Se recogieron muestras de hojas en brotes del año en la primavera de 2014. Los niveles de ploidía se determinaron mediante citometría de flujo (citómetro PAS, PARTEC). Para el aislamiento de núcleos, se troceó el tejido foliar (aprox. 0,5 cm²) con un bisturí utilizando la solución *CyStain UV ploidy* (DAPI). Para la determinación del nivel de ploidía se utilizó una escala logarítmica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se indicará el nivel de ploidía para variedades pertenecientes a distintas especies frutales e híbridos inter-específicos del género *Prunus*. Hasta la fecha se han analizado 164 accesiones de manzano del Banco de Germoplasma de la EEAD-CSIC. Entre ellas, se ha observado un total de 136 variedades diploides, 26 triploides y 2 tetraploides (Fig. 1). Para la mayoría de las variedades utilizadas como referencia, el nivel de ploidía obtenido coincide con lo publicado por otros autores y/o con la estimación obtenida a partir de la caracterización paralela realizada con microsatélites. Sin embargo, en algunos casos se han observado discrepancias con los niveles de ploidía inferidos de los perfiles moleculares de microsatélites.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos INIA RF2011-00017-C05-05 y RFP2012-00020.

Referencias

- Baird, W.C., Estager, A.S. y Wells, J.K. 1984. Estimating nuclear DNA content in peach and related diploid species using laser flow cytometry and DNA hybridization. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119: 1312-1316.
- Bennett, M.D. 1984. The genome, the natural karyotype and biosystematics, p. 41-66. En: W.F. Grant (ed.). *Plant biosystematics*. Academic Press, San Diego.

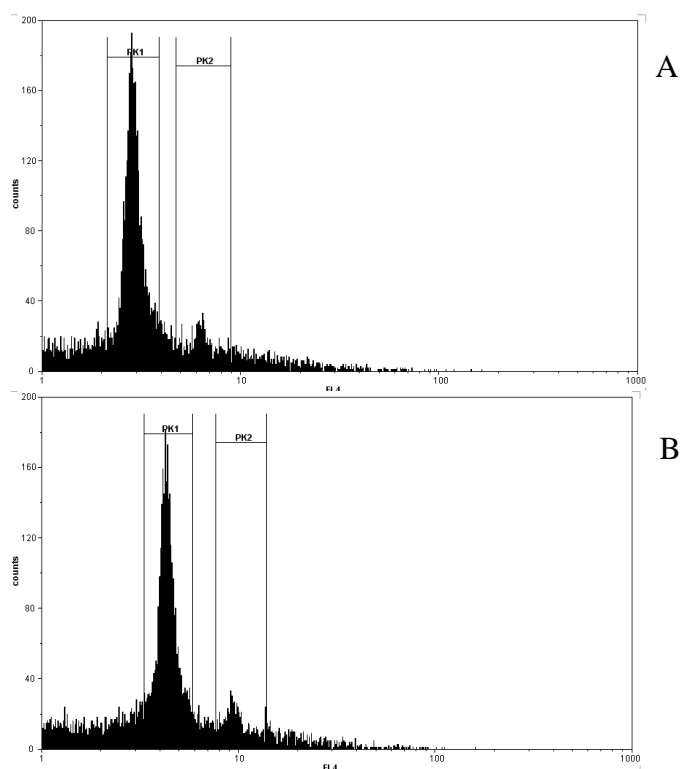


Figura 1. Análisis del nivel de ploidía de variedades de manzano mediante citometría de flujo. Los histogramas muestran el número de núcleos ('counts') frente a la cantidad de fluorescencia emitida por el fluorocromo DAPI (FL4). Pico 1 (PK1) y Pico 2 (PK2) representan los núcleos en fases G1 y G2, respectivamente. Fig. 1A: Var. Prau Riu 5 (diploide) y Fig. 1B: Carrió (triploide).