

POBLACIÓN OBTENIDA POR CRUZAMIENTO DE ESPECIES SILVESTRES Y DUPLICACIÓN DE CROMOSOMAS PARA INTROGRESIÓN DE GENES EN MANÍ

Soave, J.H.¹; Buteler, M.I.¹; Soave, S.¹; Bima, P.⁴; Faustinelli, P.^{1,2}; Moresi, A.¹; Oddino, C.^{1,3}; Bianco, C.^{1,3}

1-Criadero El Carmen 2-Universidad Católica de Córdoba 3- Universidad Nacional de Río Cuarto 4- Facultad de Ciencias Agropecuarias, U.N.C. Córdoba
mbuteler@criaderoelcarmen.com.ar

Introducción

Argentina es actualmente el primer exportador mundial de maní “confitería” o para consumo directo, después de haber superado a China en el 2010, lo que sumado a productos derivados, como pasta, manteca de maní, aceite, harina, pellets de maní, etc. conforma un ingreso anual de casi 600 millones de dólares.

La producción de maní en Argentina, orientada especialmente a la producción de maní tipo confitería de alta calidad, está inmersa, particularmente en la última década, en un continuo proceso de adopción de tecnológica y crecimiento productivo, lo que explica las posiciones de liderazgo en la exportación mundial de este tipo de productos.

Entre los problemas comerciales más importantes que el maní de origen argentino enfrenta en el mercado internacional se destaca la variación en los volúmenes ofertados anualmente, debido a las oscilaciones en la producción y el rendimiento, además de que la productividad ha alcanzado una meseta luego de cinco años de incrementos constantes, lo cual dificulta satisfacer plenamente la demanda internacional creciente de maní confitería.

Una de las causas relevantes del problema descrito son las oscilaciones en los rendimientos obtenidos localmente debido a factores abióticos como la calidad de los suelos y el estrés hídrico, y bióticos como las enfermedades fúngicas, foliares y de suelo. El sector productivo se enfrenta a esta diversidad de factores con un estrecho panorama varietal disponible, que no le permite optar por variedades mejor adaptadas a cada una de las condiciones locales o que permitan ingresar a nuevos nichos de mercado.

La solución planteada como objetivo estratégico a mediano-largo plazo se orienta a detectar y mapear genes en especies silvestres del género *Arachis* y desarrollar los mecanismos para su transferencia a variedades comerciales, para conferirles resistencia/tolerancia a los factores que en Argentina generan las mayores restricciones agronómicas para el maní. En particular se trata de hongos del suelo como *Sclerotinia minor*, *S. sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium* spp, hongos causantes de viruelas, *Cercospora arachidicola* y *Cercosporidium personatum* y estrés hídrico.

Extensas evaluaciones de especies silvestres del género *Arachis* han revelado que éstas constituyen fuentes valiosas de genes de resistencia a insectos y enfermedades con la posibilidad de su transferencia a través de cruzamientos interespecíficos. En particular, ensayos realizados en el Criadero El Carmen durante las campañas 2003/04 y 2004/05, permitieron identificar a *Arachis Cardenasii* y *Arachis correntina* como especies altamente resistentes a enfermedades causadas por hongos del suelo y enfermedades foliares, particularmente viruelas.

El objetivo de este trabajo fue construir, a partir de cruzamientos interespecíficos entre *A. Cardenasii*, *A. correntina*, donantes del genoma A y *Arachis Batizocoi*, donante del genoma B, y posterior duplicación de cromosomas, un anfidiplóide sintético que pudiese ser cruzado con cultivares de maní cultivado (*Arachis hypogaea* L.) para desarrollar poblaciones de progenitores superiores.

Método

En la campaña 2004-05 se realizaron exitosamente cruzamientos manuales entre *A. correntina* (Burkart) Krapov. & W.C. Gregory, (K 11905), genoma A y *A. Cardenasii* Krapov. & W.C. Gregory (Manfredi PI 475994), genoma A, obteniéndose semillas viables. En la campaña siguiente, 2005-06, se hicieron germinar y sobre las plantas obtenidas se realizaron polinizaciones con *A. Batizocoi* Krapov. & W.C. Gregory, genoma B.

Las semillas obtenidas se hicieron germinar *in vitro* en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal FCA/ UNC. La planta lograda fue clonada por cultivo de tejidos en el mismo laboratorio, que también desarrolló una técnica de duplicación de cromosomas con colchicina *in vitro* para la obtención de un anfidiplóide sintético.

El anfidiplóide sintético fue clonado *in vitro* y luego trasplantado a tierra. Durante estos procedimientos se verificó su condición de tetraploide mediante estudios citogénéticos y la fertilidad del polen que producía. Para determinar la viabilidad del polen del anfidiplóide sintético se calculó el porcentaje de granos germinados *in vitro*, valor que fue comparado con el porcentaje de polen que geminaba del híbrido antes de la duplicación de sus cromosomas. Para esto se empleó un protocolo desarrollado por el laboratorio de Biotecnología Vegetal (FCA-UNC), adaptado de los empleados por Fávero y por Mroginski.

En la campaña 2009-10 se empleó el anfidiplóide sintético como progenitor masculino en un cruzamiento con una línea Alto Oleico de *A. hypogaea* [17304-7-B (AO)] del programa de mejoramiento genético de maní del Criadero El Carmen.

Resultados y Discusión

El polen de plantas con genomas no duplicados del híbrido $\{(A. \textit{correntina} \times A. \textit{Cardenasii}) \times A. \textit{Batizoco}\}$ germinó en baja proporción—2,2% en oscuridad y 5,86% con iluminación; mientras que en el polen del anfidiplóide sintético, los porcentajes de germinación fueron de 26,8% en oscuridad y 25% con iluminación. Esto muestra diferencias claras de fertilidad del polen atribuibles a una meiosis más regular al duplicar el genoma del híbrido interespecífico.

Como resultado del cruzamiento entre *A. hypogaea* y el anfidiplóide sintético construido se obtuvieron cinco semillas que fueron plantadas durante la campaña 2010-11 en las parcelas experimentales del Criadero El Carmen. Todas geminaron y las plantas obtenidas produjeron 1014 semillas F_2 , que después de cosechadas fueron controladas para el atributo Alto Oleico por resonancia magnética nuclear.

La segregación 15:1 en esta progenie para este atributo (Chi-cuadrado = 1.42, $p = 0,2342$), confirma que el anfidiplóide sintético no es portador de las dos mutaciones que dan origen al alto contenido de ácido oleico en el maní cultivado, aunque es posible transferirlas por cruzamiento; lo que demuestra que se tratan de los mismos genes, que también segregan independientemente, presentes en las especies silvestres empleadas en este trabajo y en el maní cultivado.

La fertilidad de los híbridos obtenidos entre maní cultivado y el anfidiplóide sintético—1014 semillas en cinco plantas—permitiría corroborar la hipótesis de que el anfidiplóide sintético obtenido es portador de los genomas A y B, presentes en el maní cultivado originado a partir de la hibridación natural y posterior duplicación espontánea de cromosomas de *A. duranensis*, genoma A y *A. ipaënsis*, genoma B.

A partir de la F_2 de este cruzamiento amplio se están construyendo por autofecundación una población de líneas recombinantes endocriadas (RILs); y por retrocruza una población BC_1F_n . La primera, una vez caracterizada genética y fenotípicamente, puede ser empleada para mapeo de atributos de interés y su posterior empleo en selección asistida por marcadores. La segunda, luego de su caracterización fenotípica, puede ser incorporada inmediatamente al programa de mejoramiento de maní para introgresión de atributos de interés en el mediano plazo.

Conclusiones

Los resultados obtenidos ponen a disposición del sector manisero argentino una fuente de genes de gran interés para superar en el mediano-largo plazo algunas de las mayores amenazas agronómicas del cultivo de maní, como son limitaciones a la productividad causadas por estrés biótico. Además, demuestra la viabilidad y la eficiencia de los protocolos desarrollados para emplear la extensa variabilidad genética presente en especies silvestres del género *Arachis*, y así dar respuesta a necesidades y demandas de la industria manisera que consoliden su competitividad en el mercado internacional.