



Mapeo físico del cromosoma 4H^{ch} de *Hordeum chilense* mediante líneas aneuploides y de delección de tritórdeo.

V Seminario Cádiz 17-20 abril, 2008

M. Said

Introducción

□ *Hordeum chilense* ($2n=2x=14$) es una especie de cebada silvestre que contiene genes de interés agronómico para la mejora del trigo.

Cromosoma $4H^{ch}$

- tolerancia a la sal
- resistencia a *Septoria*

Introducción

- ❑ Disponer de una batería de marcadores moleculares localizados en el cromosoma 4H^{ch} facilitaría la selección de introgresiones de este cromosoma en el fondo genético del trigo.

Objetivos

- ❑ **Obtener y caracterizar citogenéticamente líneas aneuploides y de delección del cromosoma 4H^{ch} en tritórdeo.**
- ❑ **Utilizar las líneas obtenidas en el mapeo físico de marcadores SSRs, STSs y ESTs.**

Materiales y Métodos

A.- Evaluación de la descendencia de una planta **monosómica** para una **delección** en el cromosoma $4H^{ch}$ y con un cromosoma del genoma **D** de trigo harinero.

B.- Evaluación de la descendencia de una planta **monosómica para el $4H^{ch}$**

Materiales y Métodos

Caracterización citológica

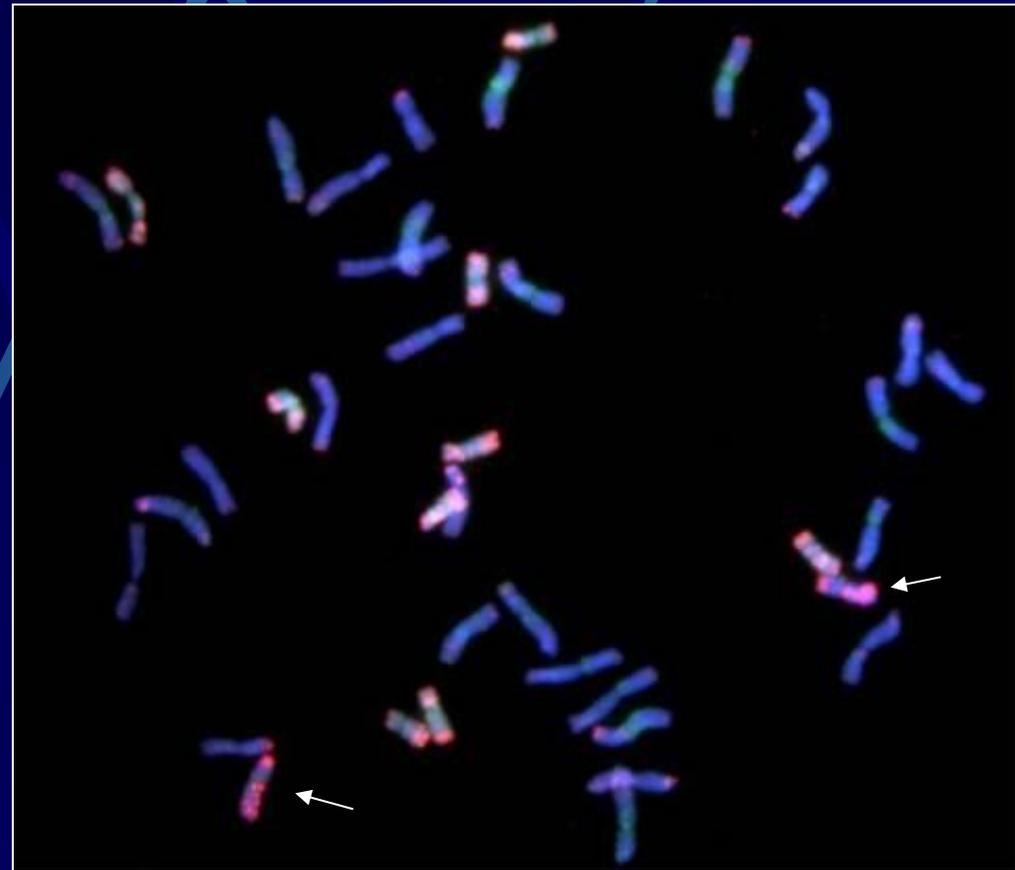
□ FISH/GISH

Sondas:

ADN total de
H.chilense

pAs1 (*T.tauschii*)

identificación de los
7 pares
cromosómicos de
H.chilense y del
genoma D de trigo.



Materiales y Métodos

Marcadores moleculares: líneas HT del 4H^{ch}

- ❑ Marcadores basados en la PCR: SSRs, STSs, ESTs
- ❑ Aproximación comparativa utilizando marcadores desarrollados en *H.vulgare*.
- ❑ Usando la base de datos del GrainGenes (<http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>) se realizó una búsqueda para marcadores SSR y STS del 4H^v
- ❑ Se seleccionaron 106 marcadores y analizaron en:
 - ❑ *H.vulgare* (Betzés)
 - ❑ *T.turgidum* (Meridiano)
 - ❑ *T.aestivum* (CS)
 - ❑ *H.chilense* (H1)
- ❑ Se comprobó su presencia en el cromosoma 4H^{ch} utilizando la línea de adición disómica de este cromosoma en trigo harinero (CS).
- ❑ Se utilizaron también 24 ESTs previamente transferidos del cromosoma 4H a 4H^{ch}

Resultados y Discusión

A- Descendencia de una planta **monosómica** para una **delección** en el cromosoma $4H^{ch}$ y con un cromosoma del genoma **D** de trigo harinero.

B- Descendencia de una planta **monosómica** para el $4H^{ch}$

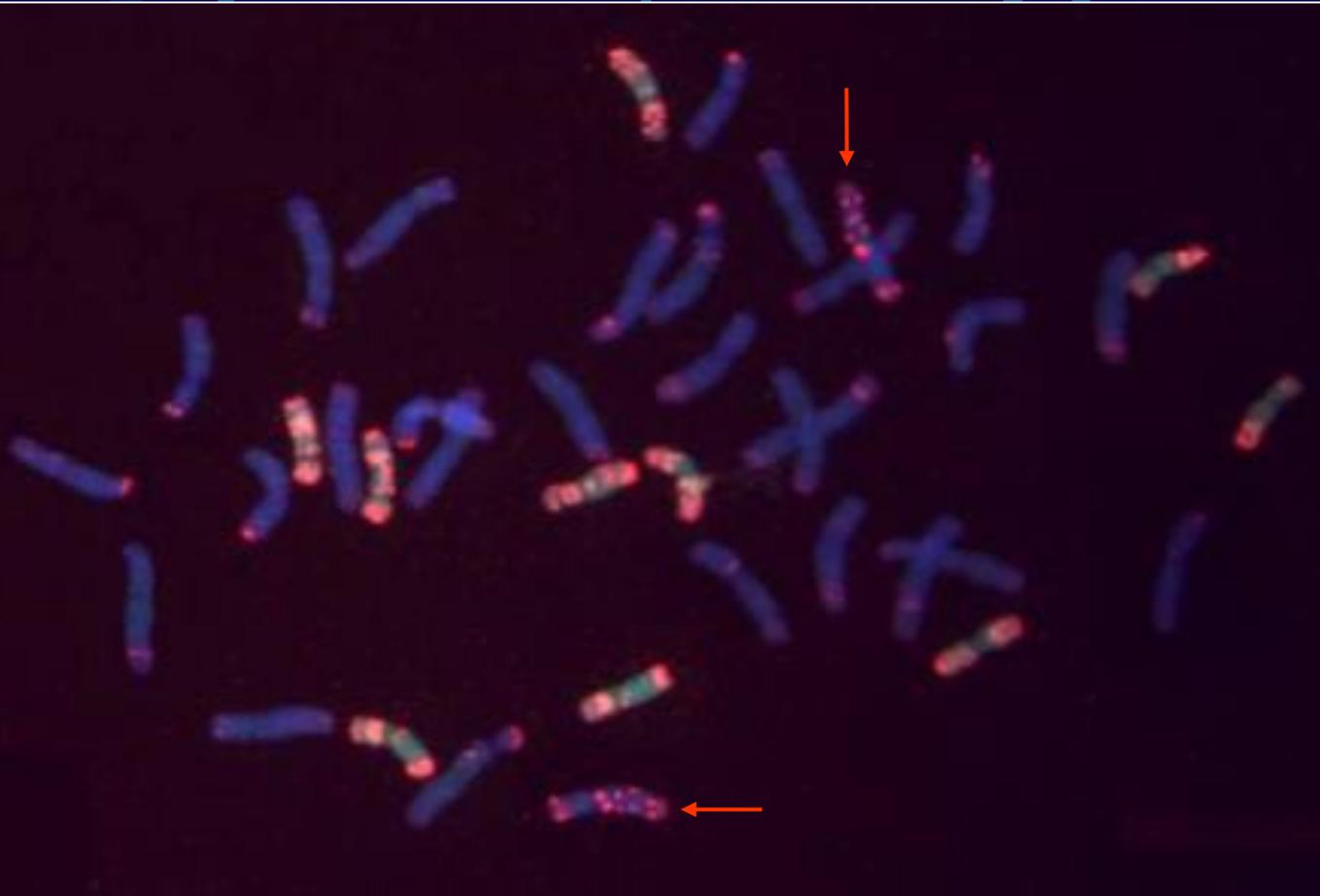
Constitución cromosómica de las líneas HT4H

AB	H^{ch}	D	No. Total	
28	12 ($d4H^{ch}L$)	2D	42	→ Delección homocigótica $4H^{ch}L$ y sustitución $2H^{ch}/2D$
28	10	2D	40	→ Doble nulisómica $4H^{ch}$ y $2H^{ch}$ y sustitución $2H^{ch}/2D$
28	$12 + 2t$ $4H^{ch}S$	-	$40 + 2t$	→ Ditelosómica $4H^{ch}S$
28	12	-	40	→ Nulisómica $4H^{ch}$

Resultados y Discusión

Doble nulisómico $4H^{ch}$ y $2H^{ch}$ (sustitución $2H^{ch}/2D$)

$$10 H^{ch} + 2D + 28AB = 40$$

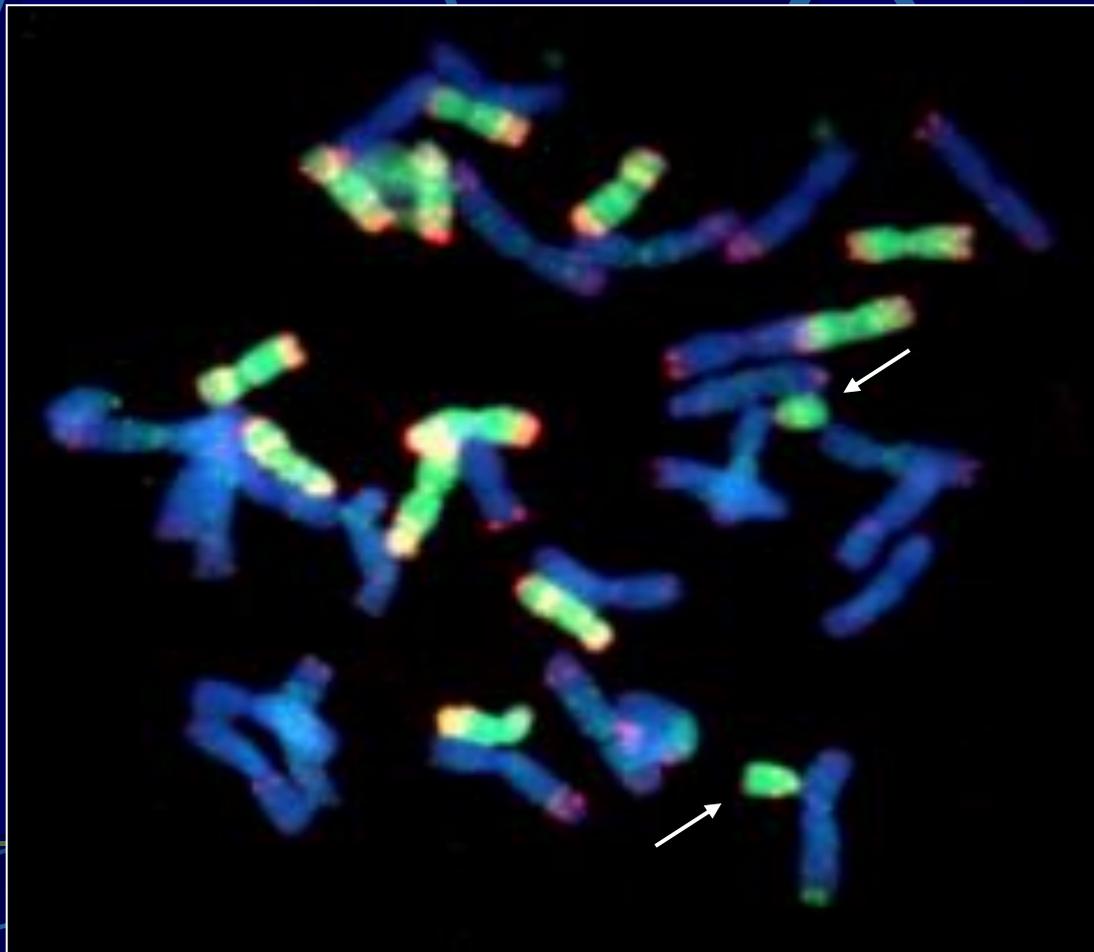


Línea HT4H^{ch}-6

Resultados y Discusión

Ditelosómica 4H^{ch}S

$$12 + 2t \text{ 4H}^{\text{ch}}\text{S} + 28\text{AB} = 40 + 2t$$

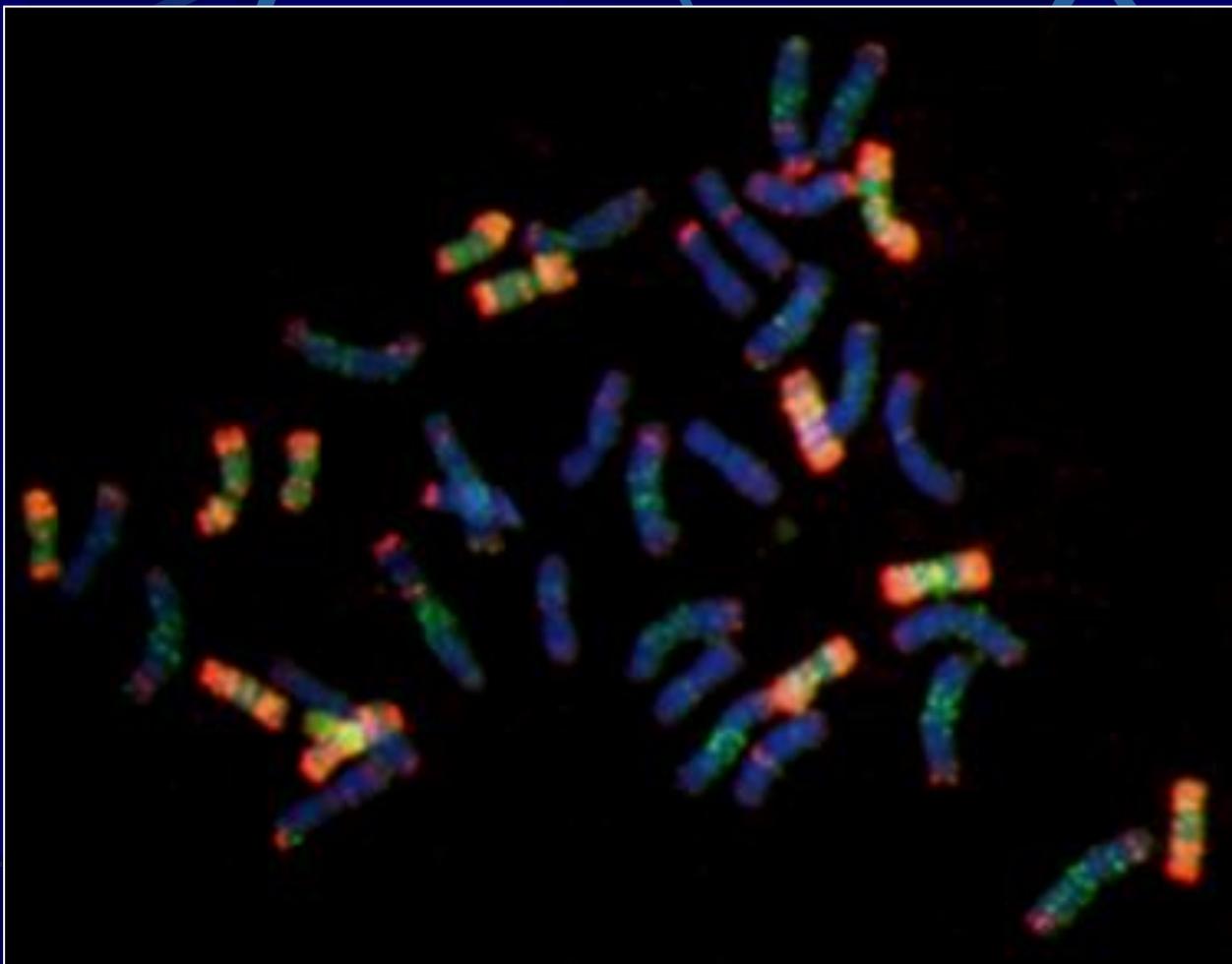


Línea HT4H^{ch}-5

Resultados y Discusión

Nulisómico 4H^{ch}

$$12 \text{ H}^{\text{ch}} + 28 \text{ AB} = 40$$

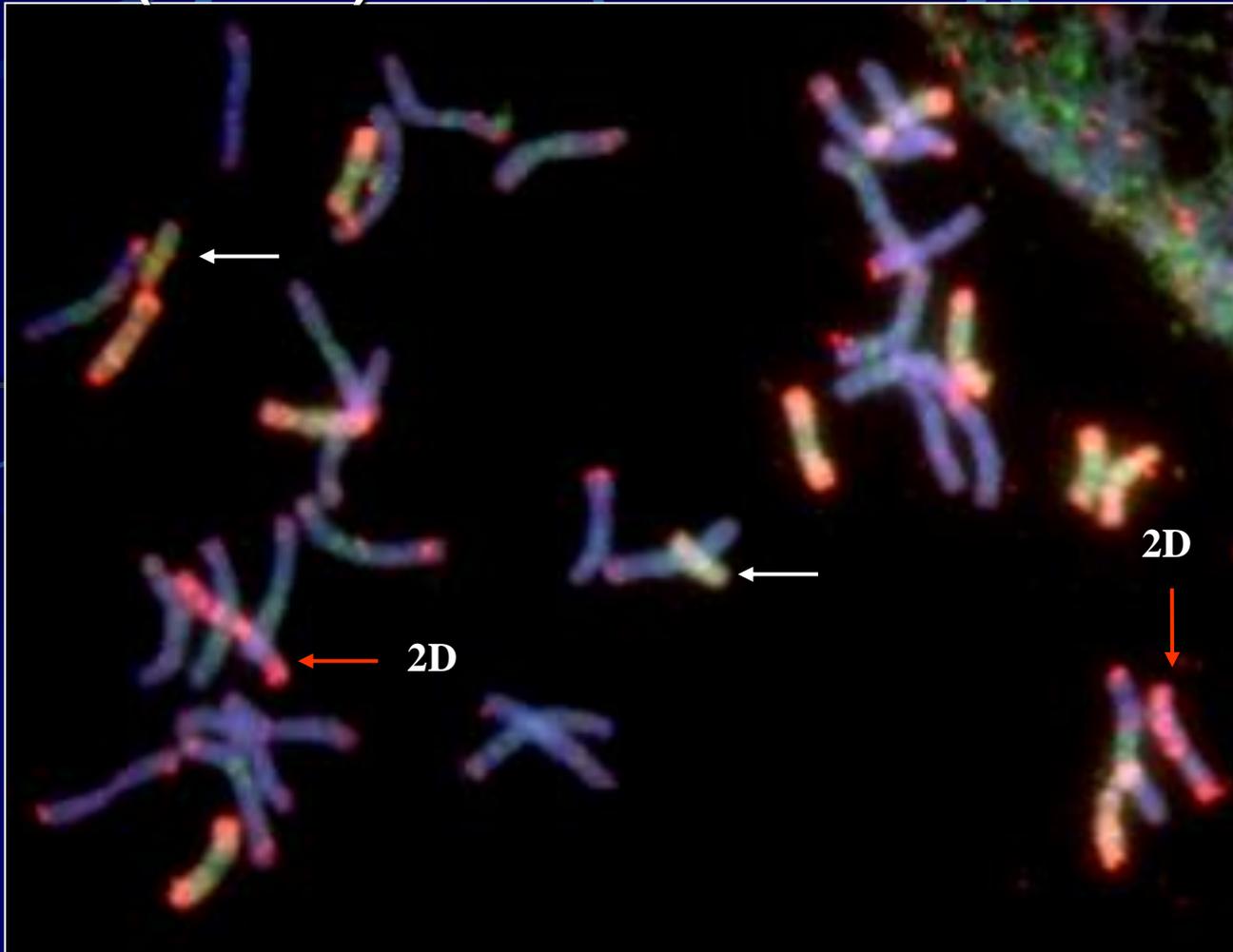


Línea HT4H^{ch}-7

Resultados y Discusión

Delección homocigótica $4H^{ch}L$
y sustitución $2H^{ch}/2D$

$12 (d4H^{ch}L) + 2D + 28AB = 42$



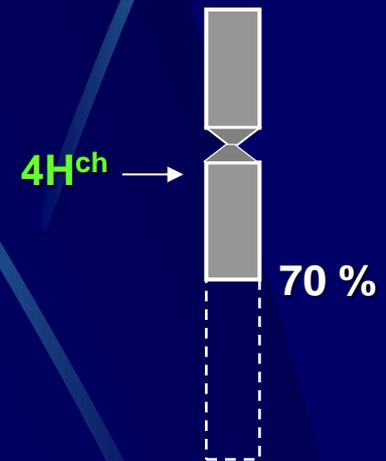
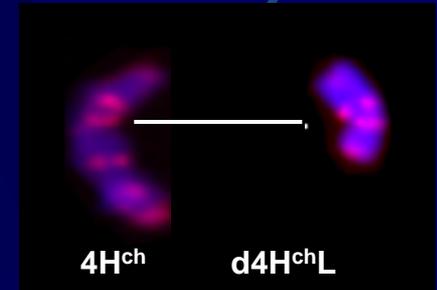
Línea HT4H^{ch}-1

Resultados y Discusión

FL cromosoma 4H^{ch}L

	\bar{X}	\pm	SE
4H ^{ch}	8,00	\pm 0.48	
del. 4H ^{ch}	4,74	\pm 0.17	

40,75 %



Resultados y Discusión

Número y frecuencia de marcadores SSRs y STSs del cromosoma 4H de cebada que amplifican en *H.chilense*

Marcador	Marcadores polimórficos	Marcadores no polimórficos	Total	
SSRs	3 ^a (4,8) ^d	5 ^b (8,1)	17 ^c (27,4)	62
STSs	2 ^a (4,5)	2 ^b (4,5)	2 ^c (4,5)	44
Total	5 ^a (4,7)	7 ^b (6,6)	19 ^c (17,9)	106

^a amplificación de solo una banda única en *H. chilense*

^b amplificación una banda única con tamaño diferente en trigo y *H.chilense*

^c amplificación una banda única con el mismo tamaño en trigo y *H. chilense*

^d numero en paréntesis = % del numero de marcadores amplifican del total marcadores examinados

Resultados y Discusión

De los 24 marcadores ESTs

2 (8,3) amplifican una banda con el mismo tamaño en trigo y *H. chilense*

1 (4,2) amplifican una banda en otro cromosoma de *H. chilense*

6 (25.0) no amplifican en nuestro material.

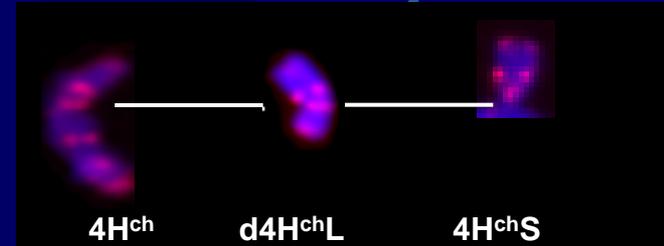
15 (62,5) amplifican una sola banda en 4H^{ch} *H. chilense*

Adición
4H^{ch}

Nuli
4H^{ch}

Delección
4H^{ch}L
(70%)

Ditelo
4H^{ch}S



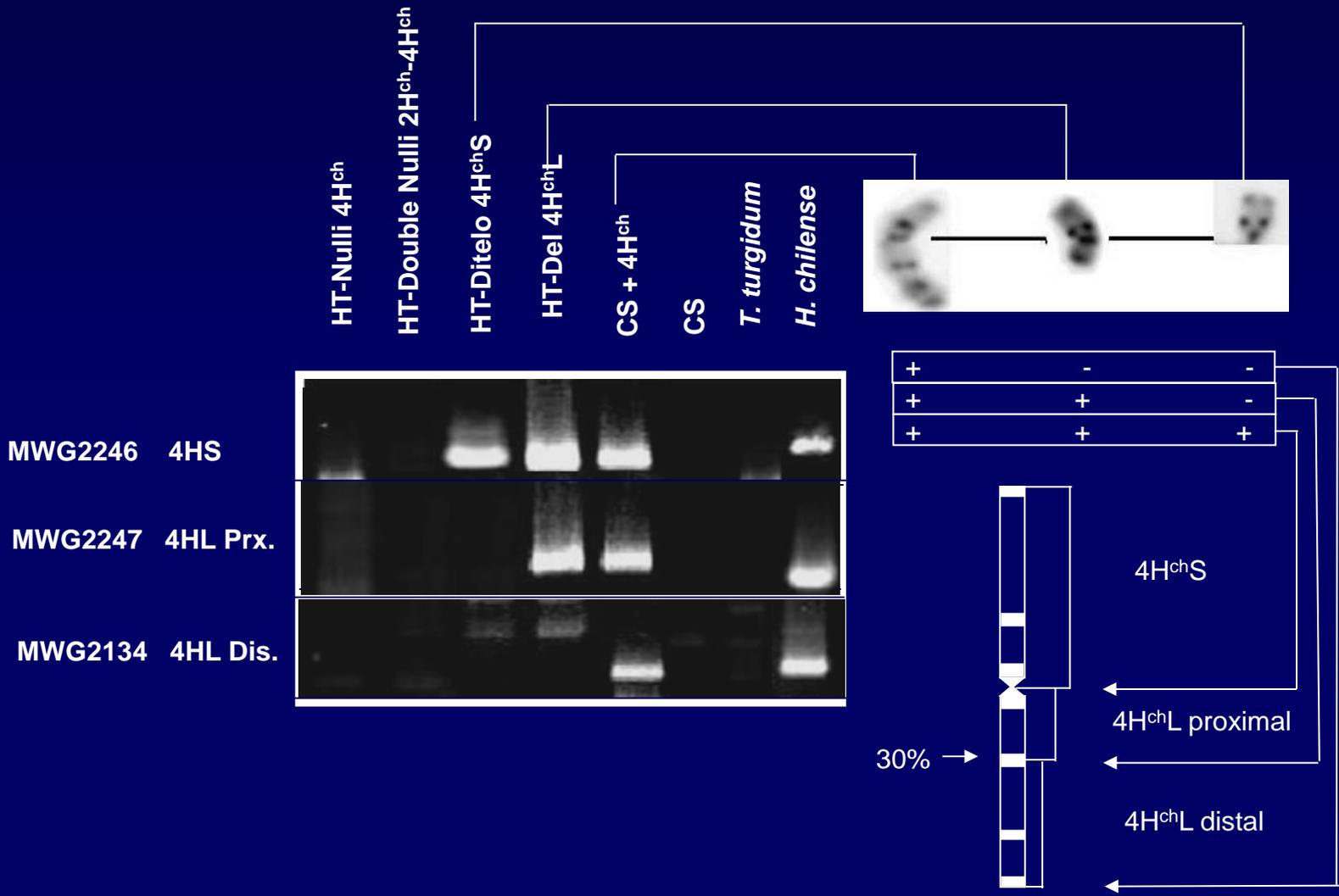
Marcador

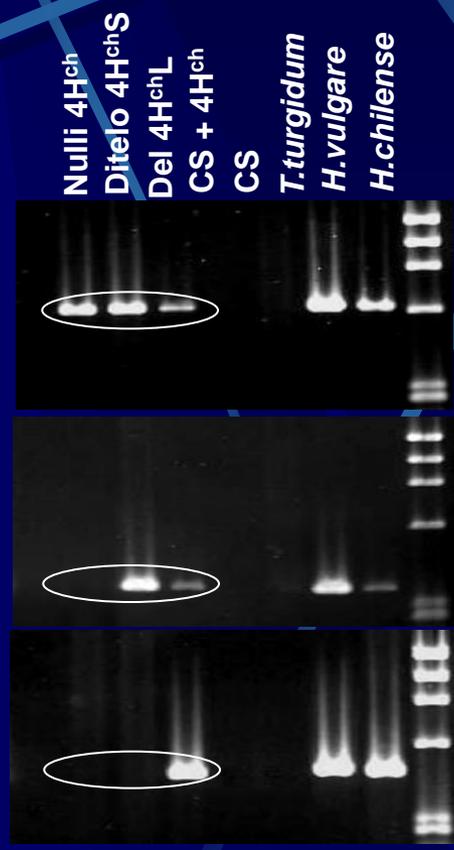
+	-	+	+
+	-	+	-
+	-	-	-

Brazo corto 4H^{ch}S

Brazo largo 30% proximal

Brazo largo 70% distal





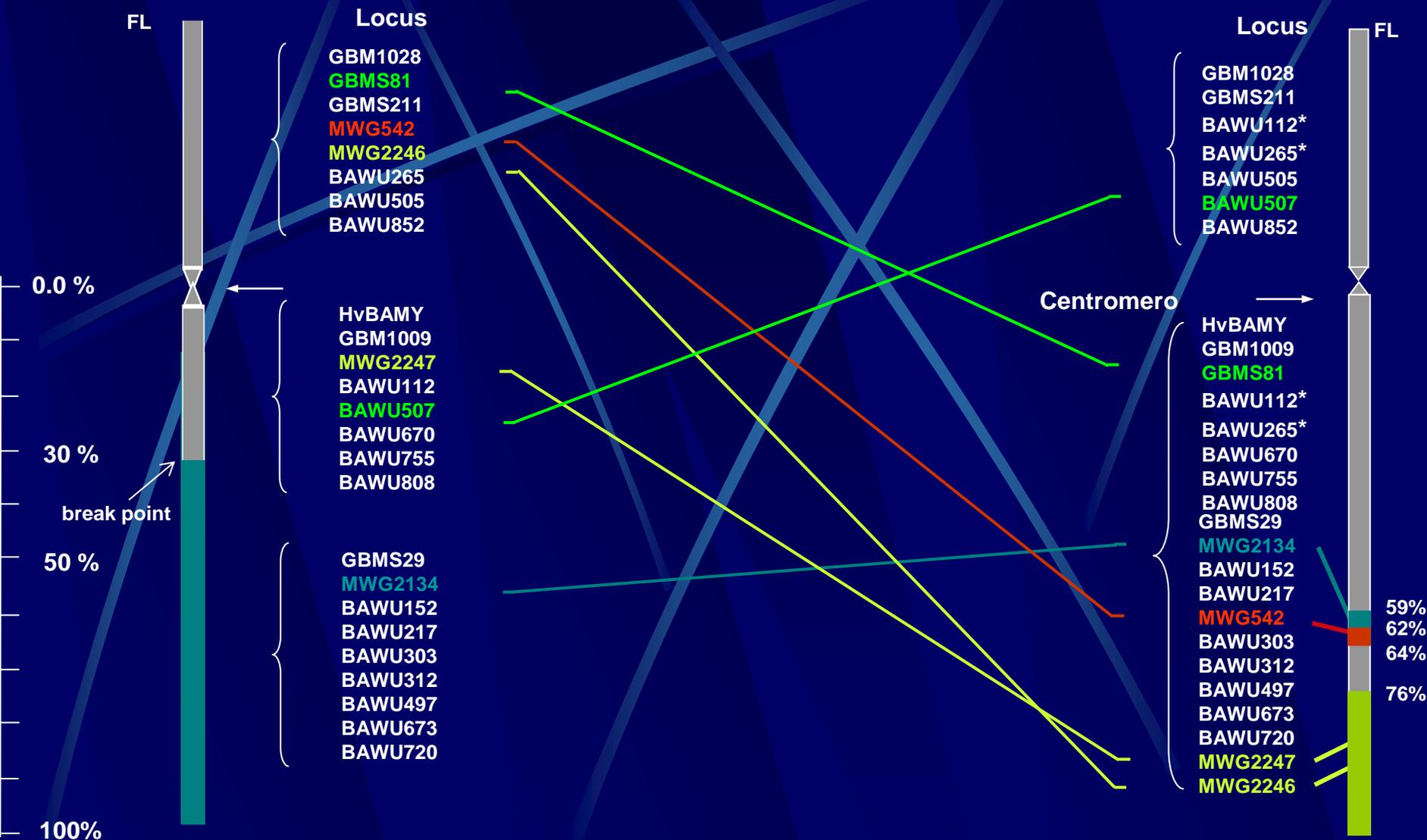
BAWU852
4H^{ch}S

BAWU112
4H^{ch}L proximal

BAWU673
4H^{ch}L distal

Mapa físico 4H^{ch}

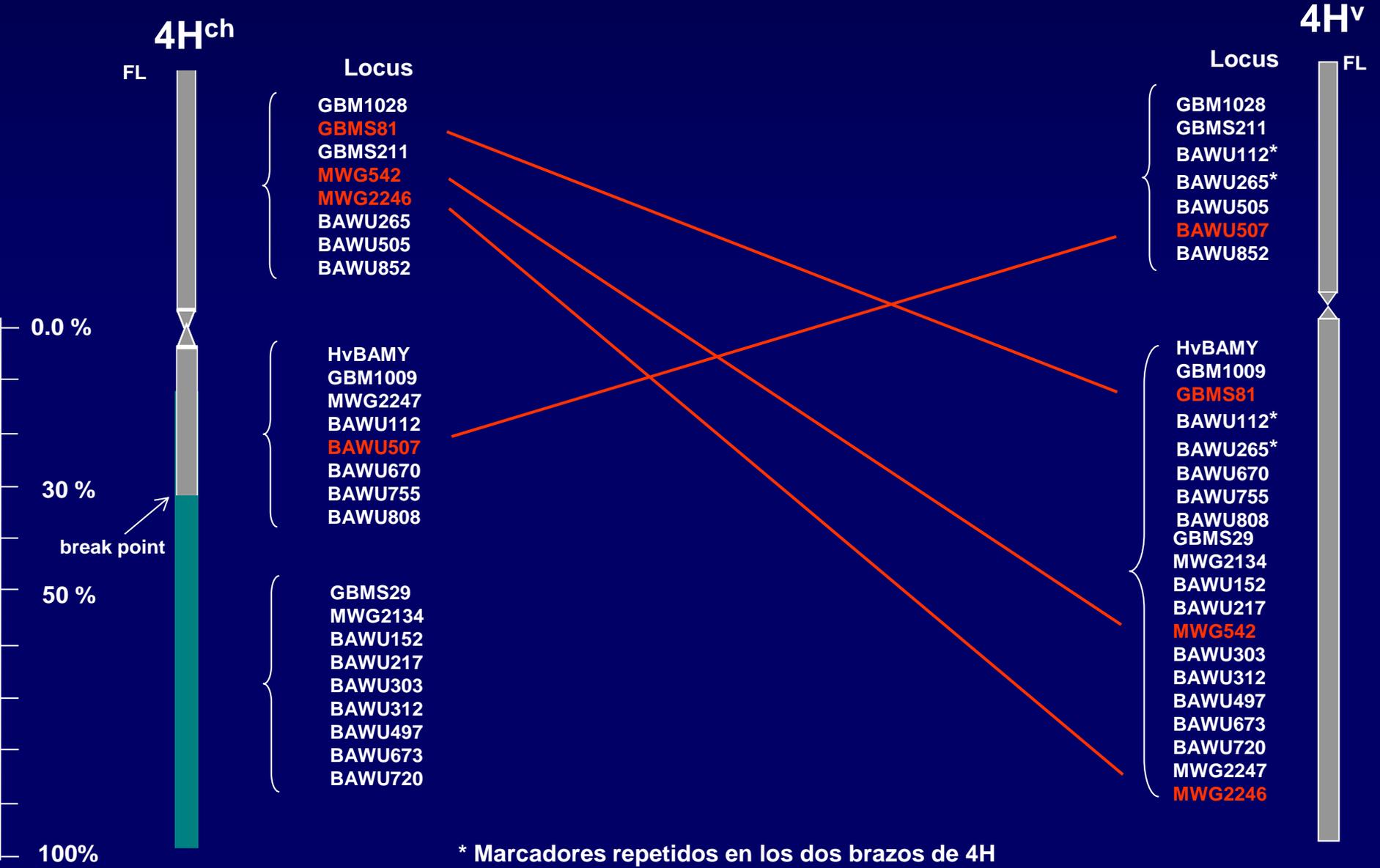
Mapa físico 4H^v



* Markers repeated in both short and long arm of 4H^v

Comparación de los mapas 4H y 4H^{ch}

-Líneas ditelosómicas 4HS y 4HL en *T.aestivum* (CS)



Conclusiones

- ❑ Las líneas aneuploides y la de delección han permitido el mapeo físico de marcadores SSRs, STSs y ESTs en el cromosoma 4H^{ch} de *H.chilense*.
- ❑ De 106 marcadores SSRs y STSs seleccionados localizados en 4H de cebada, 10 de ellos se han transferido al cromosoma 4H^{ch} (5 en el brazo corto, 3 en el 30% proximal y 2 en el 70% distal del brazo largo, respectivamente).
- ❑ De 24 ESTs seleccionados se han mapeado 15 en el cromosoma 4H^{ch} (3 en el brazo corto, 5 en el 30% proximal y 7 en el 70% distal del brazo largo, respectivamente).

Conclusiones

- ❑ Con una combinación de 3 marcadores es posible detectar tres regiones diferentes de este cromosoma en los fondos genéticos de trigo duro y harinero.
- ❑ Las líneas obtenidas pueden ser de utilidad para delimitar la región cromosómica donde se localizan los genes para resistencia a Septoria.
- ❑ De los 25 marcadores mapeados, 4 (16%) cambian de brazo cromosómico en el grupo homeólogo 4 de estas dos especies de *Hordeum*.



Gracias