

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE PORTAINJERTOS DE AGUACATE CV. HASS EN LOS ANDES NOROCCIDENTALES DE COLOMBIA

Velázquez, Valeria¹; Delgado, Oscar¹; Patiño, Laura¹; Cortés, Andrés J.¹; Navas, Alejandro¹

¹Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) - CI La Selva, Km 7 vía Llanogrande, Rionegro (Antioquia), Colombia. Correo-e: acortes@corpoica.org.co

Resumen

La producción de aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. Hass en Colombia se ha incrementado durante los últimos años como resultado de la exportación del fruto a Europa, y se estima aumentará aún más con su reciente ingreso a Estados Unidos. No obstante, pese al incremento sostenido en la producción y exportación, hoy por hoy existe un desconocimiento sistemático de la identidad genética y la idoneidad de los portainjertos sembrados y aquellos ofrecidos por los viveristas, con el riesgo de que el uso de portainjertos mal adaptados a las condiciones andinas afecte la productividad en el largo plazo. Como parte de este proyecto se caracterizaron genéticamente raíces de 49 portainjertos provenientes de ocho fincas de aguacate injertadas con el cv. Hass, localizadas en tres subregiones del departamento de Antioquia, en el noroeste Andino de Colombia, usando 13 marcadores microsatélites (SSRs). La identidad genética y el nivel de introgresión, calculados en Structure, revelaron escasa estructuración geográfica y alta heterogeneidad entre fincas, en concordancia con la alta movilidad antrópica del material usado como portainjerto desde diferentes viveros de origen. Esta caracterización abre las puertas para dirigir futuras estrategias de genotipificación para seleccionar eficientemente portainjertos idóneos para las condiciones de los Andes colombianos que, junto a prácticas agronómicas adecuadas, impactarían significativamente el rendimiento y la calidad del fruto. Un portainjerto bien seleccionado puede conferir tolerancia a enfermedades del suelo, así como mejorar el rendimiento y las características sensoriales y nutricionales de la parte comestible, entre otros parámetros relevantes para los frutos de exportación.

Palabras clave adicionales: Marcadores microsatélites (SSRs), estructura poblacional, introgresión, Structure.

GENETIC CHARACTERIZATION OF CV. HASS AVOCADO ROOTSTOCKS IN THE NORTHWEST ANDES OF COLOMBIA

Abstract

Avocado plantations (*Persea americana* Mill. cv. Hass) in Colombia have increased in the last decade because of the raise in the exportations, which are estimated to increase even more with the oncoming access of the avocado from Colombia to the market in the United States. Yet, nowadays there is a systematic knowledge gap concerning the genetic identity and the adaptive potential of the rootstocks that are already planted or are being offered. In this project roots of 349 rootstocks from eight avocado cv. Hass orchards in three regions in the province of Antioquia, in the northwest Andes of Colombia, were characterized genetically using 13 microsatellite markers (SSRs). The genetic identity of the rootstocks and the level of introgression, calculated in Structure, showed lack of genetic structure and geographic isolation, and high genetic heterogeneity within plantation, which is in line with high anthropic mobility of the material coming from very different origins. This screening, coupled with robust phenotyping, would allow designing future genotyping strategies to select rootstocks adapted to the conditions in the Colombian Andes. A genomic selection initiative like this, together with

proper agronomic practices, could significantly impact yield and fruit quality. A properly chosen rootstock could ultimately confer tolerance to soil diseases, increase yield and improve sensorial characteristics, which are key parameters in the exportation market.

Additional keywords: Microsatellite markers (SSRs), population structure, introgression, structure.

Introducción

La producción de aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. Hass en Colombia se ha incrementado durante los últimos años como consecuencia de la exportación del fruto a Europa. La producción en 2015 llegó a ca. 58,000 t, mientras que en el 2012 fue de 29,000 t. Colombia empezó a exportar aguacate cv. Hass a Europa en el 2010, por un valor de US\$97,325, que en el 2016 totalizó US\$35 millones. En los últimos dos años los incrementos anuales en la exportación han sido de 69 y 78%, respectivamente. Se pronostica que estos valores aumentarán aún más con el ingreso del aguacate colombiano a Estados Unidos.

A pesar del incremento sostenido en la producción y exportación, hoy por hoy existe un desconocimiento sistemático de la identidad genética y la idoneidad de los portainjertos sembrados y aquellos ofrecidos por los viveristas, con el riesgo de que el uso de portainjertos mal adaptados a las condiciones andinas disminuyan la productividad en el largo plazo. En este sentido, los marcadores microsatélites (SSRs) ofrecen una valiosa alternativa para inferir la diversidad e identidad genética de los portainjertos debido al alto polimorfismo y bajo costo de aquellos (Ellegren, 2004).

Materiales y Métodos

Raíces de un total de 349 portainjertos con aguacate cv. Hass fueron muestreadas en ocho fincas localizadas en tres subregiones (altiplano norte, oriente y suroeste) del departamento de Antioquia, en los Andes noroccidentales de Colombia. Se extrajo el ADN genómico a partir de raíz (protocolo modificado a partir de Iqbal et al., 2012). La concentración y calidad de cada una de las extracciones se verificaron mediante espectrofotometría usando un Nandrop 2000 (ThermoScientific, U.K). Un total de 13 marcadores SSRs, previamente diseñados (Sharon et al., 1997, Ashworth et al., 2004), fueron amplificados en tres reacciones multiplex siguiendo las condiciones del kit GoTaq® Flexi DNA Polymerase (PROMEGA, USA), posteriormente separados por electroforesis capilar en un ABI DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA). Las lecturas fueron procesadas en Peak Scanner (Thermo Fisher Scientific, USA) para la identificación de un máximo de 2 alelos por SSR por muestra. Los genotipos de los 349 portainjertos en estos 13 marcadores SSRs fueron insumo para la inferencia bayesiana de

estructura poblacional, implementada en el programa Structure (Pritchard et al., 2000) con 100,000 iteraciones (burn-in de 50,000) y tres repeticiones.

Resultados y Discusión

Este estudio reveló alta heterogeneidad genética en los portainjertos de aguacate cv. Hass en Antioquia (Cuadro 1, Figura 1) independiente de la subregión, e incluso del material criollo circundante (i.e. G. Cañas, comunicación personal), de acuerdo con los grupos genéticos (K) y a probabilidad de pertenencia de los portainjertos a cada uno de estos (determinados mediante inferencia bayesiana, i.e. Pritchard et al., 2000).

Al nivel de cada finca dos estadísticos resultaron de la inferencia bayesiana: 1) el K óptimo, es decir el grupo genético al que la mayoría de portainjertos de cada finca pertenecían con una alta probabilidad, y 2) el índice de introgresión, el cual refleja la heterogeneidad por finca. En este sentido, en la finca ANSPEB la mayoría de patrones pertenecen al mismo clúster (K2) con una probabilidad muy alta (0.94 en promedio) y por ello presenta uno de los menores valores de introgresión (0.10, Cuadro 1). Por el contrario, la finca ANEREG, con el mayor valor de introgresión (0.30, Cuadro 1), es altamente heterogénea tanto en la asignación de patrones a distintos clústeres (Ks) como en la probabilidad de pertenencia a cada uno de estos Ks (Figura 1).

Genéticamente los portainjertos analizados no sólo fueron altamente disímiles con respecto al subgrupo genético conformado por los criollos de Antioquia, sino también al conformado por los materiales de otros departamentos de Colombia y al material comercial conservado en el Banco de Germoplasma Vegetal de Corpoica (G. Cañas, comunicación personal). El origen de los porta-injertos es por ende bastante aislado e implicó probablemente un proceso de cuello de botella.

Cuadro 1. Índice de introgresión para 349 portainjertos con aguacate cv. Hass en ocho fincas localizadas en tres subregiones del departamento de Antioquia, Colombia. El índice está basado en los genotipos de estos portainjertos utilizando 13 marcadores SSRs.

Finca	Subregión	Introgresión
ANAMI	Suroeste	0.19
ANEREC	Oriente	0.23
ANEREG	Oriente	0.30
ANJABV	Suroeste	0.23
ANPELA	Oriente	0.28
ANRILE	Oriente	0.15
ANSPCS	Altiplano norte	0.30
ANSPEB	Altiplano norte	0.10

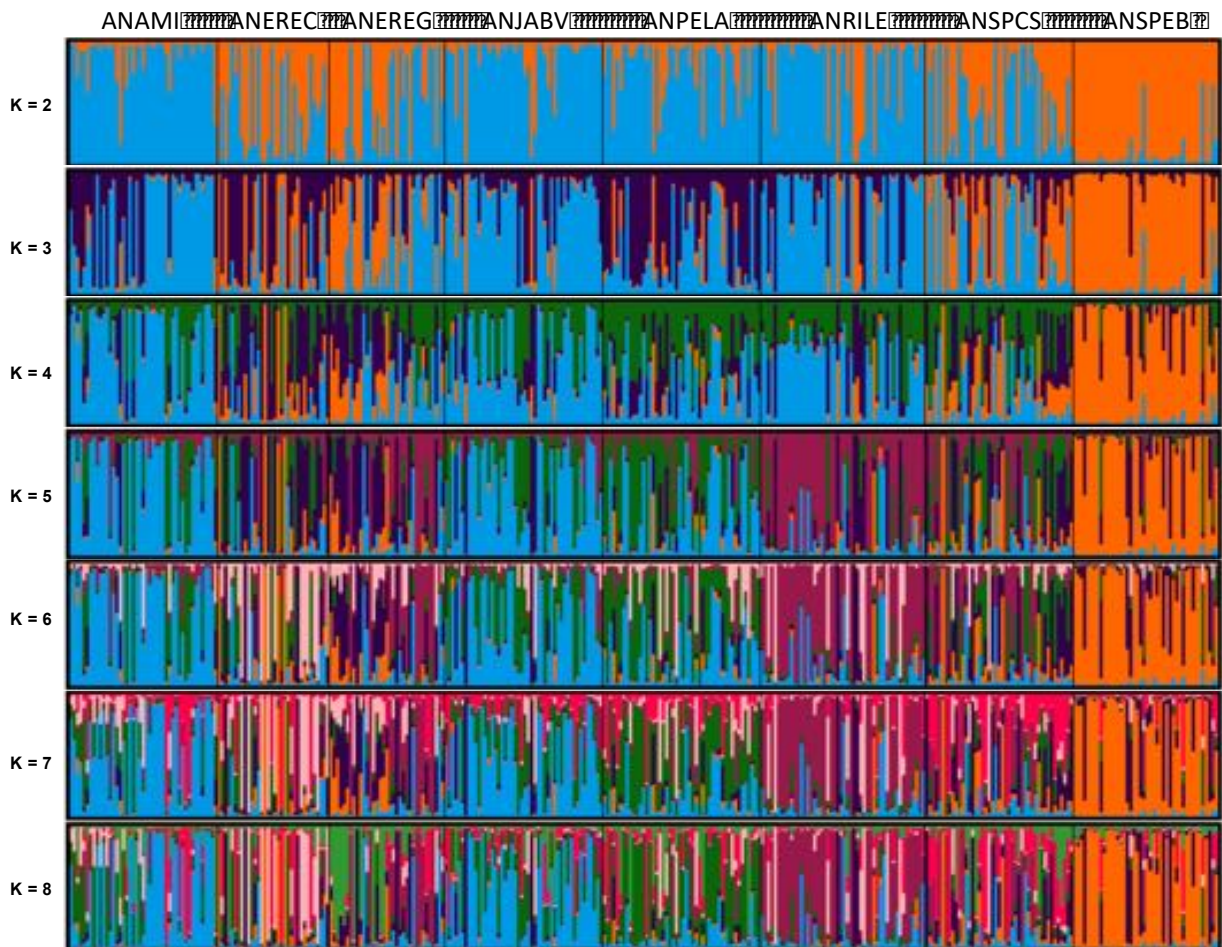


Figura 1. Gráfica de estructura poblacional (desde K= 2 hasta K = 8, donde K es el número de grupos genéticos asumidos) obtenida mediante inferencia bayesiana en Structure (Pritchard et al., 2000). Las fincas están separadas por líneas verticales con el nombre de la finca en el borde superior de la figura. La sub-región de cada finca se codifica de acuerdo con el Cuadro 1.

Esta caracterización genética permitirá a futuro guiar estrategias de genotipificación a gran escala (e.g. GBS, Elshire et al., 2011 & Glaubitz et al., 2014) con el objetivo de explorar la interacción genética entre portainjertos e injertos, la asociación genética (Maher 2008, Visscher et al., 2008, Rosenberg et al., 2010) de los primeros con características de interés agronómico, y la posibilidad de identificar oportunamente portainjertos para aguacate cv. Hass adaptados a las condiciones andinas (e.g. mediante selección genómica, Heffner et al., 2010, Lorenz et al., 2011, Desta y Ortiz, 2014, Pauli et al., 2016). La selección de portainjertos específicamente adaptados a las condiciones de los Andes colombianos, en conjunción con prácticas agronómicas idóneas, podrían en últimas impactar significativamente el crecimiento (Alcaraz et al., 2013), rendimiento y la calidad del fruto para exportación.

Literatura Citada

- Alcaraz, M.L., T.G. Thorp, and J.I. Hormaza. 2013. Phenological growth stages of avocado (*Persea americana*) according to the BBCH scale. *Scientia Horticulturae* 164:434-439.
- Ashworth V.E.T.M., M. C. Kobayashi, M. De La Cruz, and M.T. Clegg. 2004. Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): development of dinucleotide and trinucleotide markers. *Scientia Horticulturae* 101:255-267.
- Desta, Z.A. and R. Ortiz, R. 2014. Genomic selection: Genome-wide prediction in plant improvement. *Trends in Plant Science* 19:592-601.
- Ellegren, H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics* 5:435-445.
- Elshire, R.J., J.C. Glaubitz, Q. Sun, J.A. Poland, K. Kawamoto, E.S. Buckler, and S. E. Mitchell. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS one* 6(5):e19379.
- Glaubitz, J.C., T.M. Casstevens, F. Lu, J. Harriman, R.J. Elshire, Q. Sun, and E.S. Buckler. 2014. TASSEL-GBS: a high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. *PLoS one* 9(2):e90346.
- Iqbal, A., I. Ahmad, H. Ahmad, M. S. Nadeem, M. Nisar, and H. Riaz. 2012. An efficient DNA extraction protocol for medicinal plants. *International Journal of Biosciences* 3(7):30-35.
- Lorenz, A.J., S. Chao, F.G. Asoro, E.L. Heffner, T. Hayashi, H. Iwata, K.P. Smith, M.E. Sorrells, and J.-L. Jannink, 2011. 2 genomic selection in plant breeding: knowledge and prospects. *Advances in Agronomy* 110(C):77-123.
- Maher, B. 2008. Personal genomes: The case of the missing heritability. *Nature News* 456(7218): 18-21.
- Heffner, E.L., A.J. Lorenz, J.L. Jannink, and M.E. Sorrells. 2010. Plant breeding with genomic selection: Gain per unit time and cost. *Crop Science* 50:1681-1690.
- Pauli, D., S.C. Chapman, R. Bart, C.N. Topp, C. Lawrence-Dill, J. Poland, and M. A. Gore. 2016. The quest for understanding phenotypic variation via integrated approaches in the field environment. *Plant Physiology* 172:622-634.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2): 945-959.
- Rosenberg, N.A., L. Huang, E.M. Jewett, Z.A. Szpiech, I. Jankovic, and M. Boehnke. 2010. Genome-wide association studies in diverse populations. *Nature Reviews, Genetics* 11(5):356-366.
- Sharon, D., P. B. Cregan, S. Mhameed, M. Kusharska, J. Hillel, E. Lahav, and U. Lavi. 1997. An integrated genetic linkage map of avocado. *Theoretical and Applied Genetics* 95:911-921.
- Visscher, P.M., W.G. Hill, and N.R. Wray. 2008 Heritability in the genomics era - concepts and misconceptions. *Nature Reviews Genetics* 9:255-266.