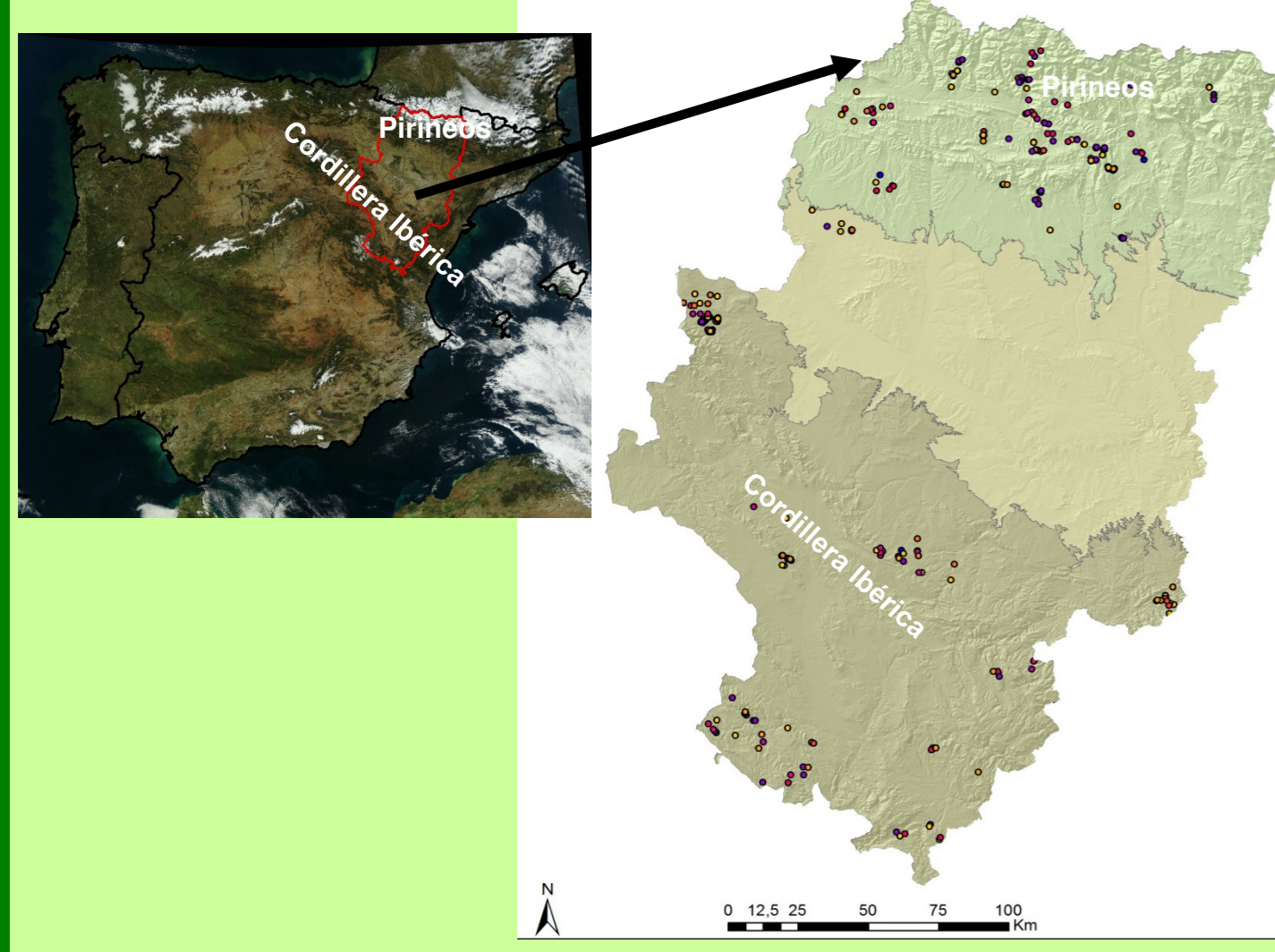


Diversidad y estructura genética de manzano prospectado en zonas de montaña de Aragón



INTRODUCCIÓN

La diversidad y estructura genética de una gran parte del manzano conservado en el Noreste español fue evaluada en Urrestarazu et al. (2012). Aunque en este trabajo se incluyeron algunas accesiones de Aragón, la prospección llevada a cabo en los últimos 10 años en el CITA en zonas de montaña, revelaron la importancia de esta especie en esta área geográfica en las últimas décadas, así como el interés en profundizar en el conocimiento de la diversidad de manzano procedente de estas zonas. A través de varios proyectos de investigación se inició una prospección sistemática en zonas de montaña de las tres provincias aragonesas con el objetivo de recuperar variedades tradicionales que de esta especie aún persisten en la región. Su recuperación y conservación, así como su caracterización, es de gran relevancia ya que este material constituye una fuente de diversidad genética no suficientemente explorada. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la diversidad y determinar la estructura genética de manzano prospectado en Aragón en los últimos años.



MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

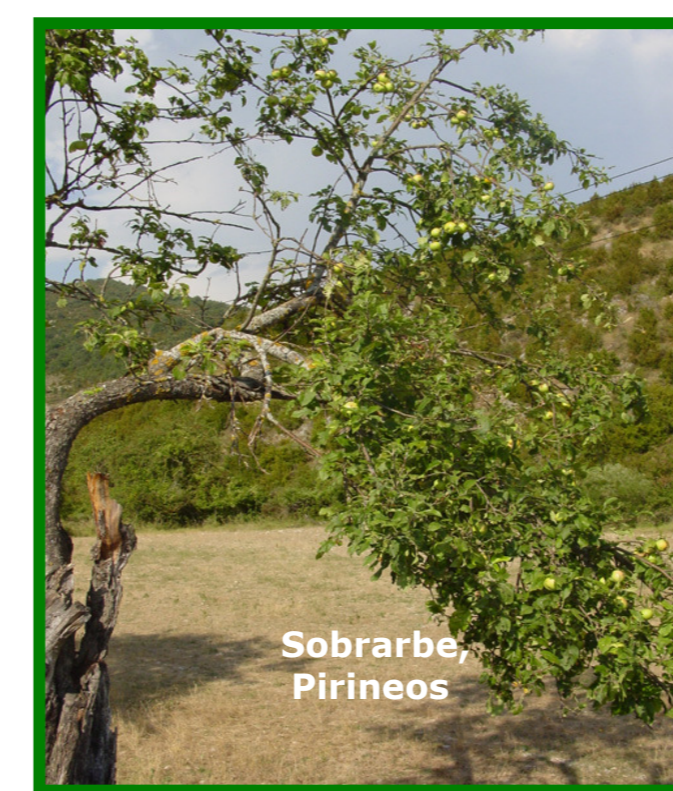
183 manzanos prospectados en las tres provincias Aragonesas y 23 variedades de referencia.

Análisis mediante SSR

Se aisló el ADN del material prospectado y de referencia y se analizaron 20 SSRs distribuidos en los 17 grupos de ligamiento del manzano a través de cinco PCR múltiples siguiendo los protocolos descritos en Pina et al. 2014.

Diversidad y estructura genética

Se calculó para cada marcador el número de alelos totales, el número de alelos efectivos y la heterocigosidad observada y esperada. Se realizó el análisis UPGMA mediante coeficiente de similitud de Nei y Li. La estructura genética se determinó mediante análisis de agrupamiento bayesiano usando Structure v 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) y se validó a través de un Análisis Factorial de Correspondencias (AFC). El grado de diferenciación se cuantificó mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA).



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversidad genética y polimorfismos

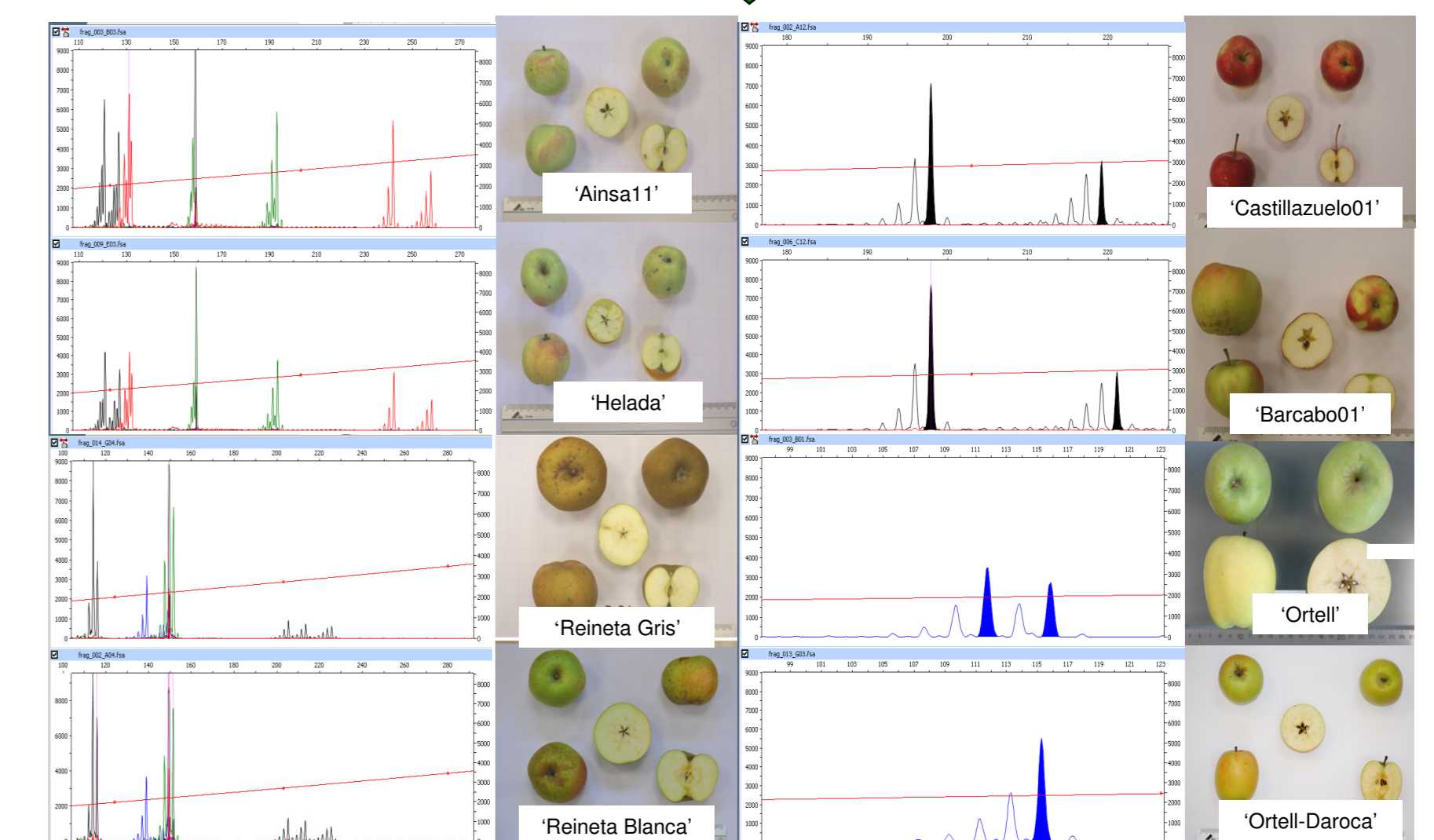
Los 20 SSRs empleados fueron polimórficos y amplificaron un total de 256 alelos, de los cuales 146 fueron alelos infrecuentes (frecuencia < 0.05). El número de alelos osciló entre 6 y 21 alelos por locus (media de 12.8), mientras que dada la gran proporción de alelos poco frecuentes, el número medio de alelos efectivos fue de 5.67. La heterocigosidad esperada media fue alta (0.80), en la línea de los valores obtenidos en manzano de otras regiones españolas. Se detectó un 29% de accesiones duplicadas entre las 183 analizadas.

Relaciones genéticas entre el material de referencia y local

Más del 60% de las accesiones estudiadas quedó localizado en grupos distintos de aquellos en los que quedaron integradas la mayoría de las variedades foráneas de referencia, lo que podría indicar el carácter singular de una gran parte del material prospectado.

Locus	Overall set (n=151)						
	A	B	A _e	H _e	H _e	P _b	F _{IS}
Hh02c07	8	3	2.49	0.60	0.60	0.80	0.039
GD12	15	10	4.59	0.78	0.78	0.92	0.044
NZ05g08 ^a	14	10	3.35	0.48	0.70	0.86	0.353
CH05f06	10	3	7.01	0.90	0.86	0.94	-0.067
CH02b12 ^a	11	5	5.50	0.55	0.82	0.93	0.353
CH03d07	21	16	7.92	0.91	0.88	0.96	-0.042
CH04e05	15	10	3.78	0.82	0.74	0.88	-0.087
CH01h10	10	5	3.54	0.76	0.72	0.86	-0.058
CH01e12 ^a	8	4	3.62	0.54	0.73	0.86	0.261
CH02e11	12	4	9.52	0.94	0.90	0.97	-0.068
COL	12	8	4.94	0.87	0.80	0.92	-0.094
CH02d08	15	8	7.06	0.93	0.86	0.96	-0.084
CH01f02 ^a	15	8	7.72	0.70	0.87	0.96	0.254
NZ28f04	6	2	3.78	0.84	0.74	0.88	-0.178
GD147	12	7	5.91	0.89	0.83	0.91	-0.058
CH04c07	16	10	8.03	0.96	0.88	0.96	-0.090
CH02d11 ^a	16	12	4.77	0.66	0.79	0.92	0.174
NZ02b01	14	9	5.48	0.81	0.82	0.93	0.003
CH02c09	12	4	7.74	0.89	0.87	0.96	-0.042
CH01h01 ^a	14	8	6.73	0.72	0.85	0.95	0.168
Mean	12.8	7.30	5.67	0.78	0.80	0.92	0.036

Ocho parejas de accesiones se diferenciaron sólo por un alelo, y cinco más en dos. Estas ligeras diferencias en ≤ 2 loci podrían considerarse mutaciones somáticas. Además, otras 15 parejas de genotipos compartieron al menos un alelo en cada locus, indicando que podrían estar relacionados por hibridación.



Análisis de la estructura genética y diferenciación

La estructura genética de los 151 genotipos únicos (130 accesiones prospectadas más 21 variedades de referencia) se determinó mediante 16 SSRs, tras eliminar del análisis aquellos que podrían presentar alelos nulos. El número de grupos más probable en los que se estructuró el material fue $K=4$. El grado de diferenciación genética detectada entre los grupos determinados ($F_{ST}=0.07$; $P<0.001$), así como los resultados obtenidos mediante análisis complementarios (AFC y dendrograma UPGMA), fueron coherentes con los obtenidos con el análisis de agrupamiento bayesiano.

Grupo o subgrupo	Número de genotipos			
	Total	Accesiones	Cultivares de referencia	% genotipos con $qI>0.8$
G1	53	38	15	44.3
G2	98	92	6	72.0
G1.1	15	14	1	87.0
G1.2	38	24	14	68.0
G2.1	37	34	3	79.0
G2.2	61	58	3	79.0

Número de genotipos únicos asignados a los grupos genéticos en el material de referencia y en el material prospectado en Aragón y coeficiente medio de pertenencia ($qI>0.8$).



CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo revelan una importante diversidad genética en el manzano procedente de áreas montañosas de Aragón y su carácter singular respecto a las variedades de referencia, lo que pone de manifiesto el interés de este material procedente de zonas abandonadas que se encuentra en vías de extinción. Este material ha persistido sin ninguna influencia humana bajo condiciones adversas durante mucho tiempo, por lo que esta variabilidad podría ser importante en la identificación de genes de interés de resistencia a estrés bióticos y abióticos.

REFERENCIAS

Pina A., Urrestarazu J., Errea P. 2014. Analysis of the genetic diversity of local apple cultivars from mountainous areas from Aragón (Northeastern Spain). *Sci.Hort.* 174: 1-9.
Urrestarazu J., Miranda C., Santesteban L.G., Royo J.B. 2012. Genetic diversity and structure of local apple cultivars from Northeastern Spain assessed by microsatellite markers. *Tree Genet Genomes* 8: 1163-1180.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos INIA RF2009-00015-00-00 y RF2011-00017-C05-00.