

Caracterización del BAG de duraznero y loci asociados a la conservación y daños por frío en frutos mediante GWAS

Chirino, Julián S. ; Aballay, Maximiliano M. ; Budde Claudio O.; Valentini Gabriel H.; Sánchez, Gerardo*.
Estación Experimental Agropecuaria (EEA) San Pedro (-33,73°S, -59,79°O), INTA, Ruta N°9, Km 170. Argentina.
E-mail: sanchez.gerardo@inta.gob.ar

Introducción

Los duraznos son sensibles a las bajas temperaturas (0–5 °C) y desarrollan síntomas durante el almacenamiento refrigerado denominados daños por frío. Se destacan la harinosidad, el pardeamiento y sangrado (Figura 1). Los daños reducen la aceptación de los frutos y los cortos períodos de almacenamiento poscosecha limitan su distribución a mercados distantes. La búsqueda de variabilidad en banco activo de germoplasma (BAG) y el desarrollo de técnicas moleculares para la identificación del origen genético de este fenómeno abre un panorama prometedor para ampliar los períodos de almacenamiento y extender la vida útil de los frutos.



Figura 1. Daños producidos en almacenamiento refrigerado (0 °C). A) Harinosidad, al presionar el fruto no desprende jugo, con textura arenosa y ausencia de jugo; B) Pardeamiento intenso, oscurecimiento de la pulpa; C) Sangrado intenso, pigmentación rojiza de la pulpa.

Objetivos

Determinar el control genético de los caracteres de conservación refrigerada, daños por frío y caracterizar el BAG en condiciones de almacenamiento.

Materiales y Métodos

Durante la campaña 2021-2022 se fenotipó un panel de 172 accesiones bajo un diseño factorial incompleto, previamente genotipado y caracterizado con 14057 marcadores moleculares (SNP, SSR e Indel). Los tratamientos se estructuraron como: 1) 0 días de almacenamiento a 0 °C; 2) 30 días de almacenamiento a 0 °C; 3) 40 días de almacenamiento a 0 °C y 4) 47 días de almacenamiento a 0 °C (solo nectarinas). Posteriormente, se maduraron los frutos a 20 °C de 3 a 5 días. Sobre muestras de 15 frutos por genotipo, se midieron las variables: conservación refrigerada con un criterio de 13% de frutos afectados; nivel de harinosidad, pardeamiento y sangrado para las categorías subjetivas: 0= fruto normal, 1= levemente afectado, 2= medianamente afectado, 3= altamente afectado; 4= fruto extremadamente afectado (solo harinosidad), tipo de fruto y color de pulpa. Se realizaron estudios de asociación del genoma completo (GWAS) para cada variable y se caracterizó el BAG. Para el análisis se utilizó el Software R, paquete GAPIT3 y modelos lineales generalizados de ajuste independiente.

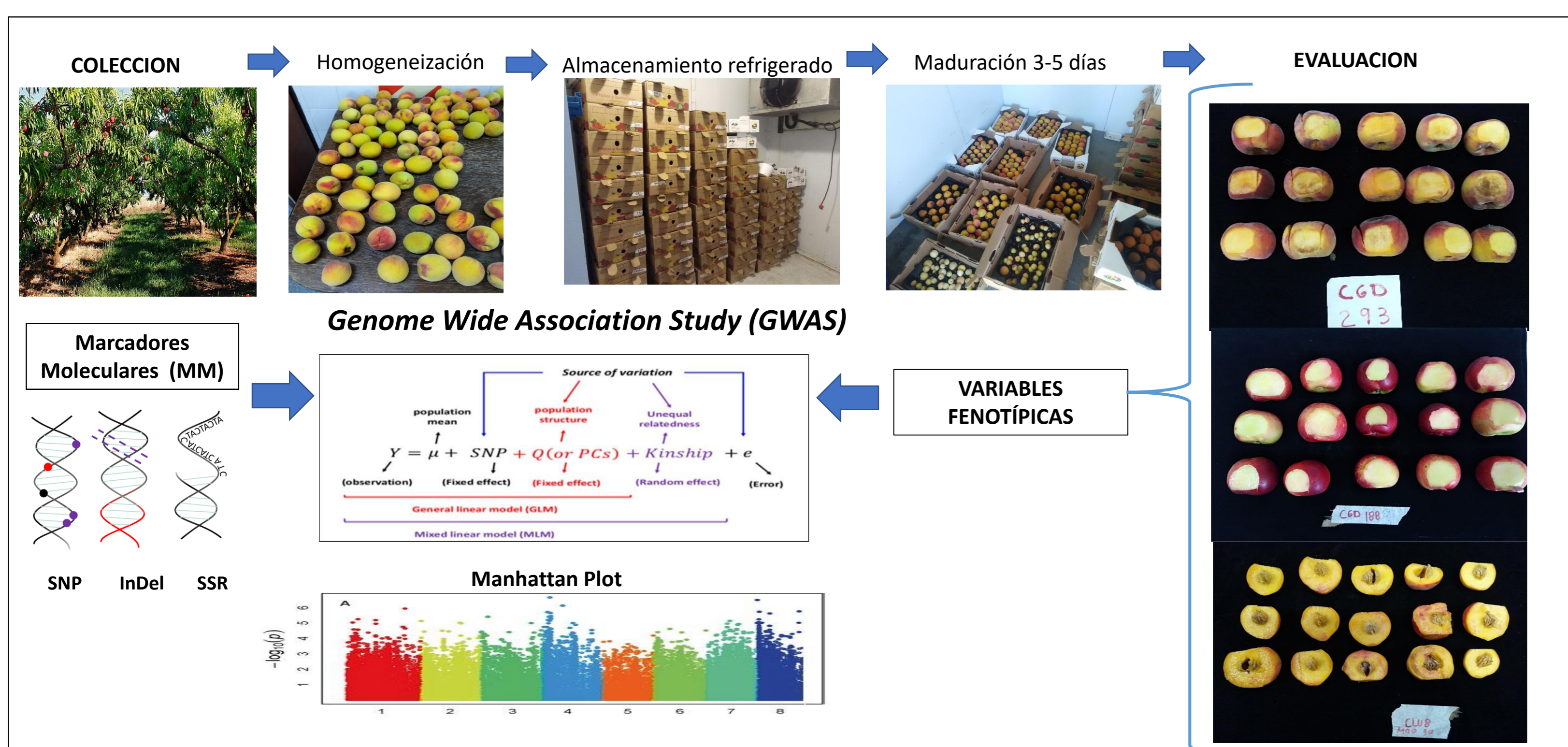


Figura 2. Diagrama de trabajo. A partir de la cosecha 172 genotipos con firmezas entre 5 y 7 Kg/cm², se homogeneizaron las muestras por tamaño, grado de madurez y se almacenaron 15 frutos por 30, 40 y 47 días. Se maduraron en cámara a 20 °C de 3 a 5 días para la expresión de los daños por frío y se evaluaron con firmezas de pulpa <2kg/cm². Los MM y la información fenotípica se incorporaron a un estudio de GWAS para determinar la existencia de regiones del genoma responsables de controlar los caracteres evaluados. Se consideró el efecto de estructura poblacional con un análisis de componentes principales. Los resultados obtenidos se analizaron a partir de un Manhattan Plot que grafica la probabilidad de asociación entre marcadores y caracteres.

Resultados

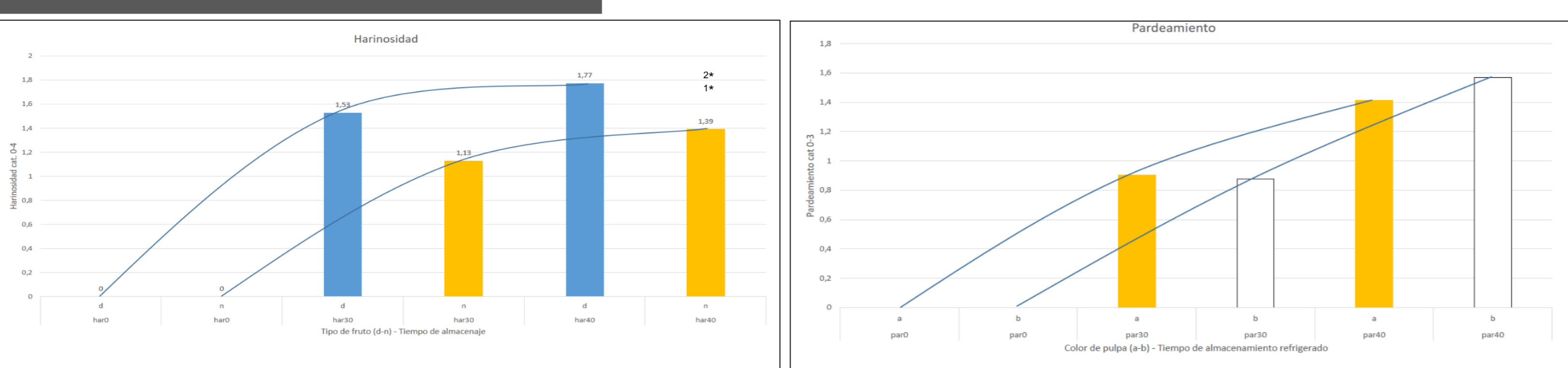


Figura 3. Evolución de la harinosidad categórica (0-4) en 0, 30 y 40 días de refrigeración (0 °C) para genotipos de 137 durazneros (d) y 35 nectarinas (n). Diferencias significativas por tratamiento (1*) y entre duraznos/nectarinas (2*). Las nectarinas presentan niveles más bajos de harinosidad que los durazneros por tratamiento.

Figura 4: Evolución del pardeamiento categórico (0-3) en 0, 30 y 40 días de refrigeración (0 °C) para genotipos de durazno o nectarina de pulpa amarilla (137) y de pulpa blanca (35). Existen diferencias significativas por tratamiento, no así por color de pulpa.

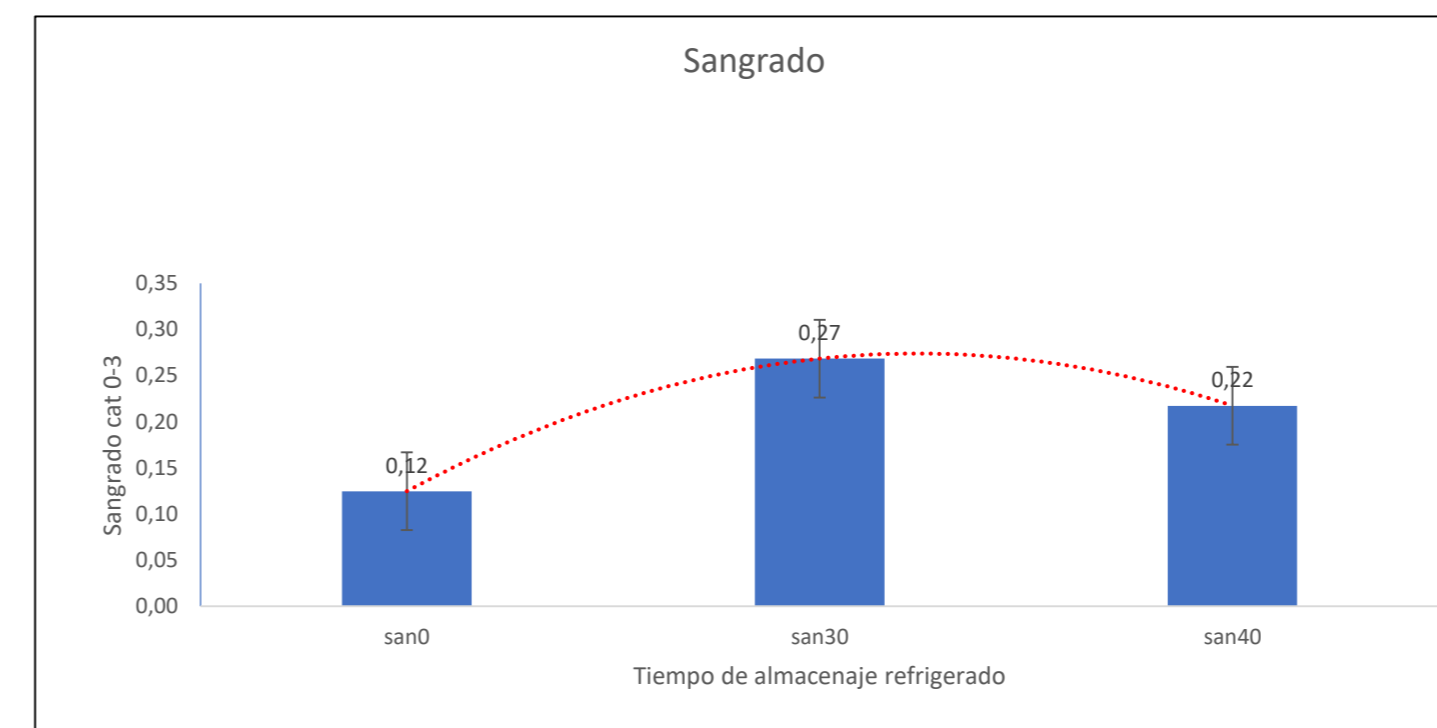


Figura 5. Evolución del sangrado categórico (0-3) en 0, 30 y 40 días de refrigeración (0 °C) para 172 genotipos. No existen diferencias significativas entre tratamientos.

El estudio de asociación (GWAS) identificó, controlando la variable conservación refrigerada, un QTL de efectos mayores al inicio del cromosoma 2. Para harinosidad de la pulpa se identificó un QTL co-localizado con conservación refrigerada. Pardeamiento refrigerado presentó un QTL al final del cromosoma 2 y sangrado refrigerado un QTL en el sector medio del cromosoma 4 (Tabla 1). Los daños por harinosidad y pardeamiento aumentaron con el tiempo de refrigeración, mientras que el sangrado se comportó erráticamente.

La caracterización identificó 21, 9 y 4 genotipos con conservación refrigerada superior a 30, 40 y 47 días respectivamente, sin daños por frío. Todos los genotipos que superaron 40 y 47 días presentan fechas de cosecha tempranas (20/10/2021 al 20/11/2021).

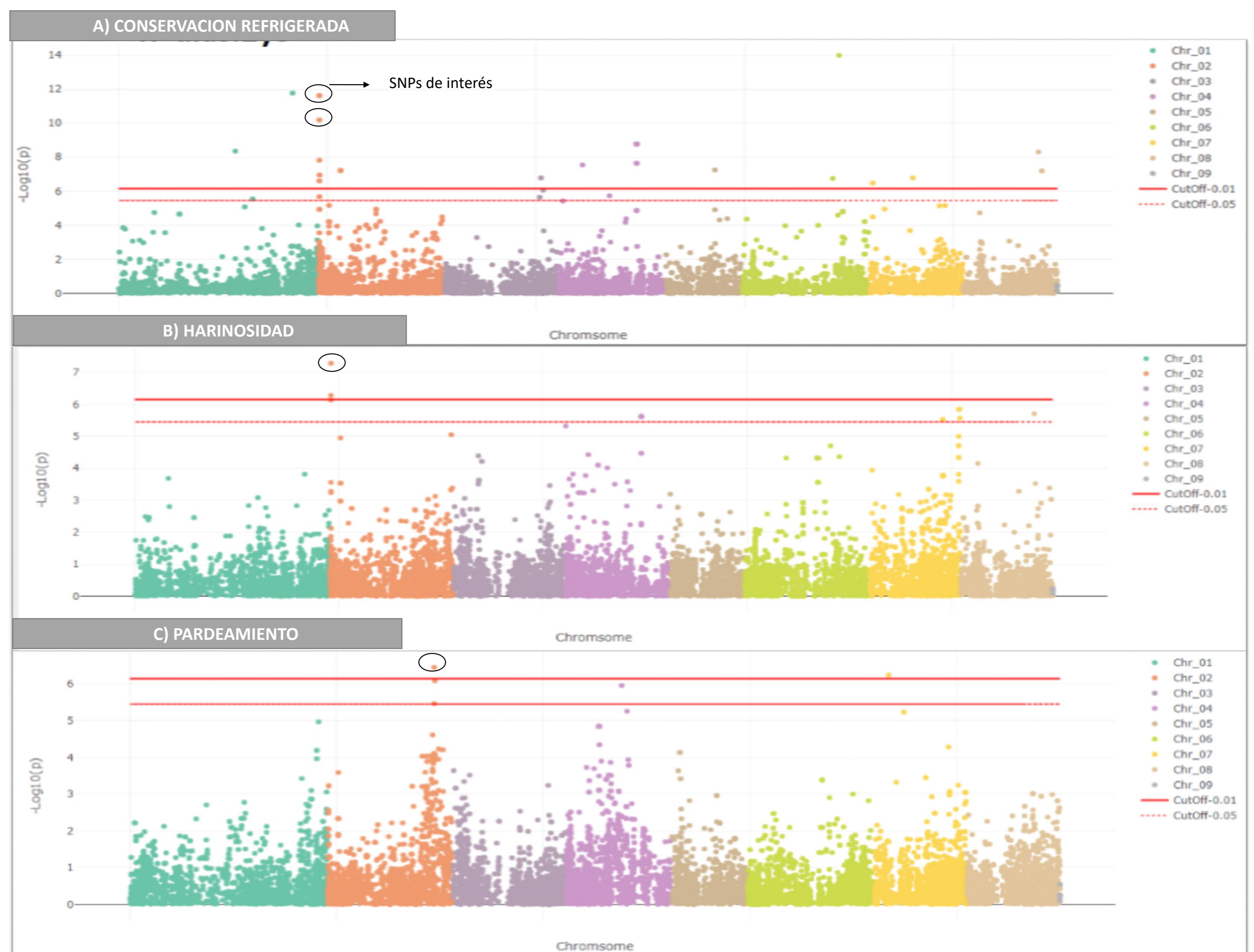


Figura 5. Manhattan Plot. Representación de 8 cromosomas por color y MM en círculos. A) Conservación Refrigerada; B) Harinosidad; C) Pardeamiento, usando un modelo lineal generalizado (GLM). Las líneas rojas superior e inferior representan umbrales de significancia siendo P<0.01 y P<0.05 respectivamente, utilizando el ajuste de Bonferroni. En el cromosoma dos (Chr_02) se observa asociación significativa entre la presencia de MM y las variables en estudio por superar la línea de corte.

Variable	Cromosoma/Posición	Loci	Tipo de marcador	LOD	R ² (%)
Conservación Refrigerada	Pp02.309565	QTL	SNP_G.C	11,60	36,6
Harinosidad	Pp02.309565	QTL	SNP_G.C	7,28	26,4
Pardeamiento	Pp02.25844469	QTL	SNP_G.T	6,45	29,42

Tabla 1. Variables, Numero de cromosoma y posición, tipo de marcador (Nucleótido de referencia y variante SNP), LOD(log₁₀ p-value) y coeficiente de determinación R². Conservación Refrigerada: el carácter queda determinado por el alcance de 40 o 47 días de refrigeración con menos del 13% de frutos afectados, los genotipos que presentan SNPs alternativos en la posición 309565 demuestran ser poco o nulamente afectados por Harinosidad, Pardeamiento y Sangrado. Pardeamiento: los genotipos que superan 40 días de refrigeración con un 13% o menos de frutos afectados por pardeamiento presentan alelos alternativos en la posición 25844469.

Conclusiones

- El nivel de pardeamiento no depende del color de pulpa.
- El sangrado no se asoció de forma directa con el daño por frío.
- Las nectarinas presentaron mejor comportamiento en almacenamiento que los duraznos.
- Los genotipos de cosecha temprana tienen mayor capacidad de conservación refrigerada que los tardíos.
- Estos resultados sugieren la existencia de control genético asociado a estos caracteres que deberán analizarse en otras campañas.
- Se identificaron SNPs asociados a las variables estudiadas no descritos anteriormente que podrían tener importantes efectos sobre la conservación poscosecha de frutos.
- El BAG contiene variabilidad disponible para ser utilizada en programas de mejora para el desarrollo de cultivares de elevada conservación refrigerada.

QR code 150x150 px