

DESARROLLO DE UN MAPA GENÉTICO CON MARCADORES SSRs Y AFLPs EN AGUACATE

M. A. Viruel, E. Gross-Germann, A. Barceló



E.E. La Mayora-CSIC, Algarrobo-costa (Málaga)
CIFA-IFAPA, Churriana (Málaga)



Importancia del cultivo de aguacate en España

Años 60

9.000 Has.

44-50 mil Tm/año

30 mill de € brutos/año



Segundo cultivo subtropical en España

Cultivares: “Hass” y “Fuerte”

Portainjertos: Semillas de “Topa-Topa”, “Lula”

Duke-7, Dusa® (*P. cinnamomi*)

Podredumbres radiculares



Podredumbres radiculares

Decaimiento

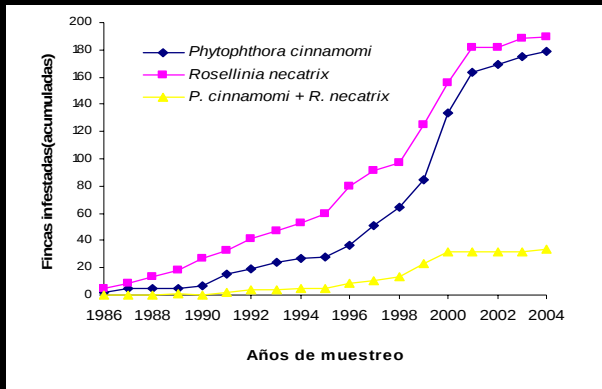
Phytophthora cinnamomi

Rosellinia necatrix: podredumbre blanca de raíz



1995: Programa de selección de IFAPA-UM-CSIC

Portainjertos tolerantes a *R. necatrix*



- Falta de portainjertos tolerantes
- Métodos clásicos de control ineficaces
- Incidencia creciente: 46% en 2004

Programa de selección del CIFA de Churriana (IFAPA)

Portainjertos tolerantes
a *P. cinnamomi*

Árboles seleccionados en
campo como posibles
escapes a *R. necatrix*

Semillas
procedentes de
orígenes diversos



COLECCIÓN DE PORTAINJERTOS DE LA E.E. LA MAYORA

Descendientes tolerantes

Tres árboles autóctonos han
destacado por producir elevados
porcentajes de semillas que han
sobrevivido a las primeras
inoculaciones

Cónsula 9
Bueno
La piscina

Estudios a nivel genético

Objetivo

Construcción de un mapa genético parcialmente saturado con marcadores que permitan el estudio del control genético de la tolerancia a *R. necatrix* y la búsqueda de marcadores moleculares ligados a la tolerancia y útiles para su selección

ANTECEDENTES

Genoma de aguacate: $2n = 24$, $C = 800$ Mpb

RAPDs (Fiedler, 1998)

Minisatélites (Mhameed et al., 1997)

80 SSRs

Sharon et al, (1997)

Ashworth et al, (2003)

Birnbaum et al., (2003)

70 SSRs-ETSS (Borrone et al., 2007)

Identificación de genotipos

Relaciones genealógicas

Mapa genético. Sharon et al (1997)

34 marcadores (25 SSRs, 3 RAPDs, 6 DFPs)

12 grupos de ligamiento (3 con más de 3 marcadores)

352.6 cM

Parcial

PLANTEAMIENTO INICIAL

Material vegetal

Población base: 94 individuos de una familia de medios hermanos descendientes de “Cónsula 9”

Intento fallido de realizar cruzamientos dirigidos



Marcadores SSRs publicados:

Cribado en agarosa metaphor

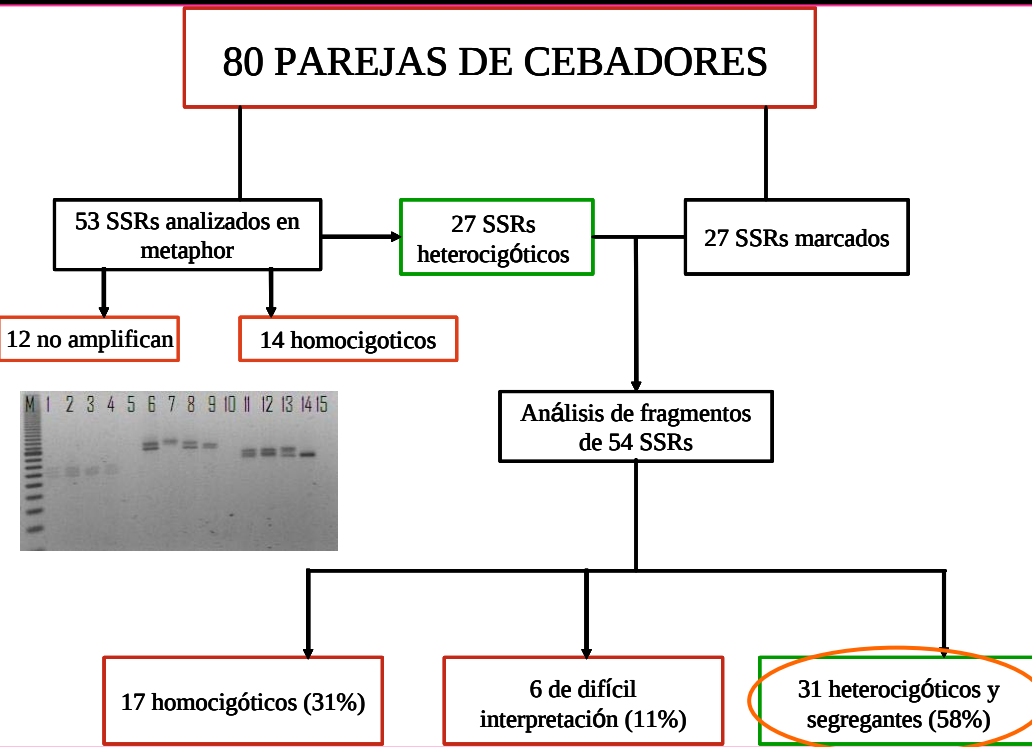
Análisis en un analizador de fragmentos CEQ8000

Estrategia de mapeo “pseudo-testcross” (Grattapaglia & Sederoff, 1994)

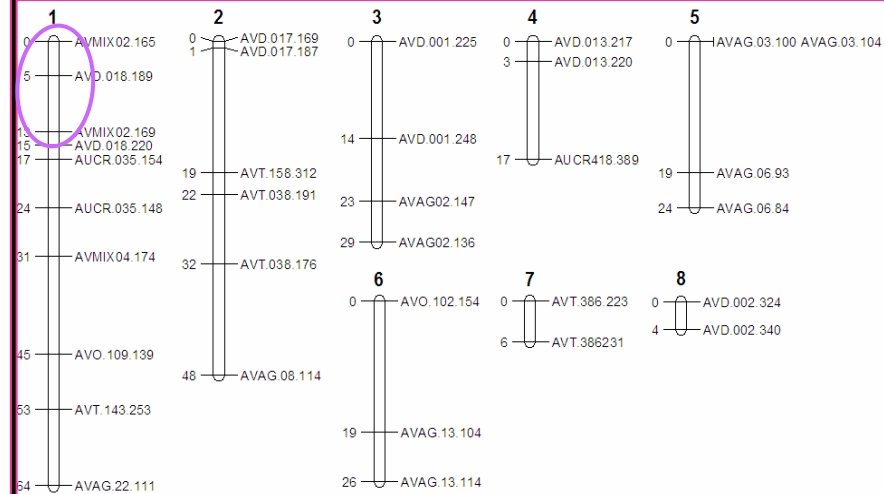
Joinmap v 4.0 (Van Ooijen, J.W. & R.E. Voorrips, 2001)

PRIMEROS RESULTADOS

MARCADORES POCO INFORMATIVOS

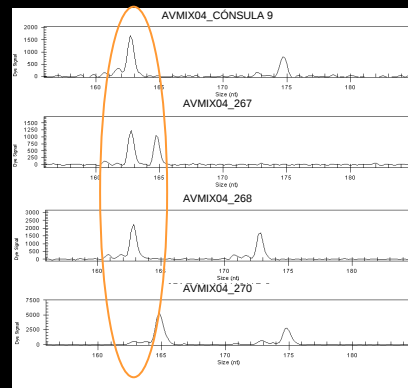


SEGREGACIÓN DE ALELOS INDEPENDIENTES



Mapa poco representativo
58 alelos segregantes
33 marcadores ligados
8 grupos
215 cM

Precisión mejorable



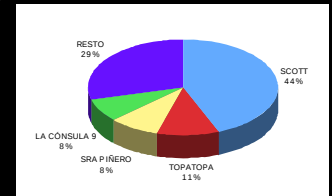
NUEVA ESTRATEGIA

Aumentar la precisión del mapado

Material vegetal:

Identificación de una subpoblación de hermanos completos
“**Cónsula9**” x “**Scott**” de 83 individuos
15 SSRs, Cervus 3.0 (Kalinowski *et al.*, 2007)

Estrategia “CP”



Incrementar la representación del genoma

Marcadores:

Desarrollo de nuevos SSRs

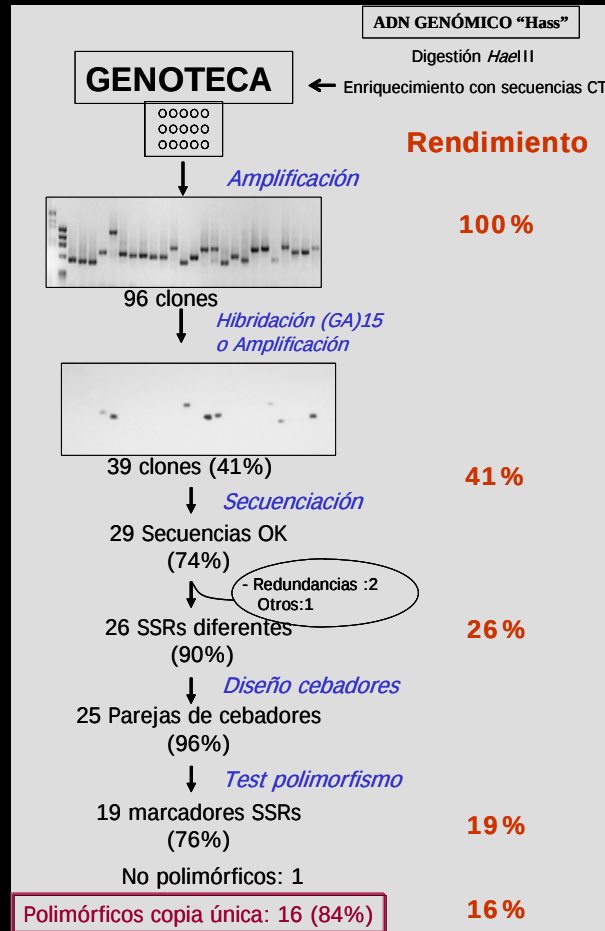
ACTGATCTGATTCTACGATGGTTTATCGGATCTCTCTCTCTCTCTCGTGGTGTTGTATGTACAT
TGAATATAACAACATTATTGAAATTAAGACATTTACCGACTTCACTGATTAGATGCTAGTATTA

Desarrollo de AFLPs

RESULTADOS

Desarrollo de nuevos SSRs

Construcción de una
genoteca
enriquecida (CT)



19 SSRs

16 SSRs útiles
para el mapa

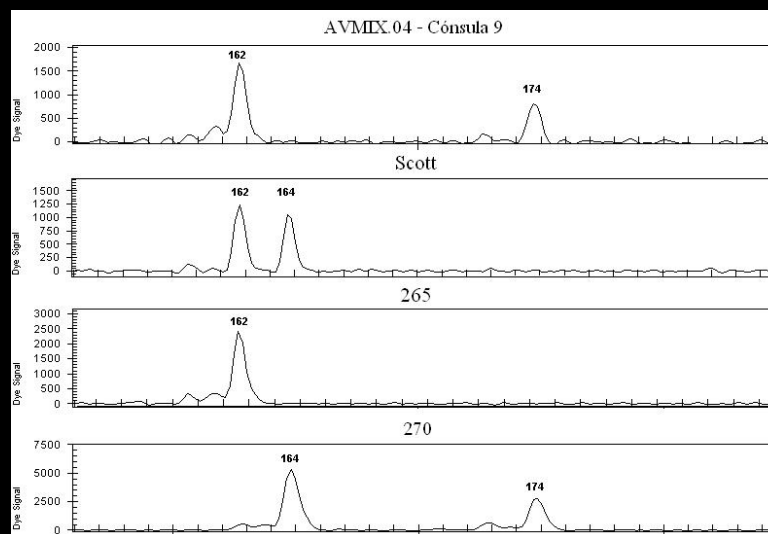
Segregan
1 locus

EST-SSRs: 8897 ETSs (NCBI)
Programa: Sputnik (Abajian, 1994)
121 secuencias

30 EST-SSRs
10 EST-SSRs útiles

RESULTADOS

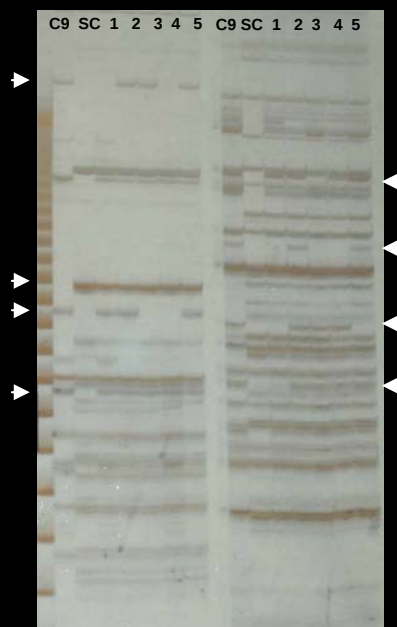
EFICACIA DE LOS MARCADORES SSRs “Cónsula 9 x Scott”



ORIGEN	ANALIZADOS	AMPLIFICAN (% TOTAL)	TOTAL (% AMPLIF.)	POLIMÓRFICOS 1 LOCUS (% ANALIZ.)
SSRs Publicados	80	59 (74%)	45 (76%)	31 (39%)
EST-SSRs	30	22 (73%)	11 (50%)	10 (33%)
SSRs Genoteca	19	19 (100%)	18 (95%)	16 (84%)
Total SSRs	129	100 (77%)	74 (74%)	48 (37%)

RESULTADOS

DESARROLLO Y ANÁLISIS DE AFLPs



<i>EcoRI</i> / <i>MseI</i>	Nº	TOTAL BANDAS	BANDAS SEGREGANTES	Heterocigotos Cónsula 9	Heterocigotos Scott
+3/+2	2	135	9 (7%) (3,6)	3 (50%)	3 (50%)
+3/+3	4	212	33 (16%) (5-12)	17 (57%)	13 (43%)
Total		347	42 (12%)	20 (56%)	16 (44%)
Media		57,8	7 (12%)	3,3 (56%)	2,7 (44%)

RESULTADOS

MAPA GENÉTICO

SEGREGACIONES ENCONTRADAS

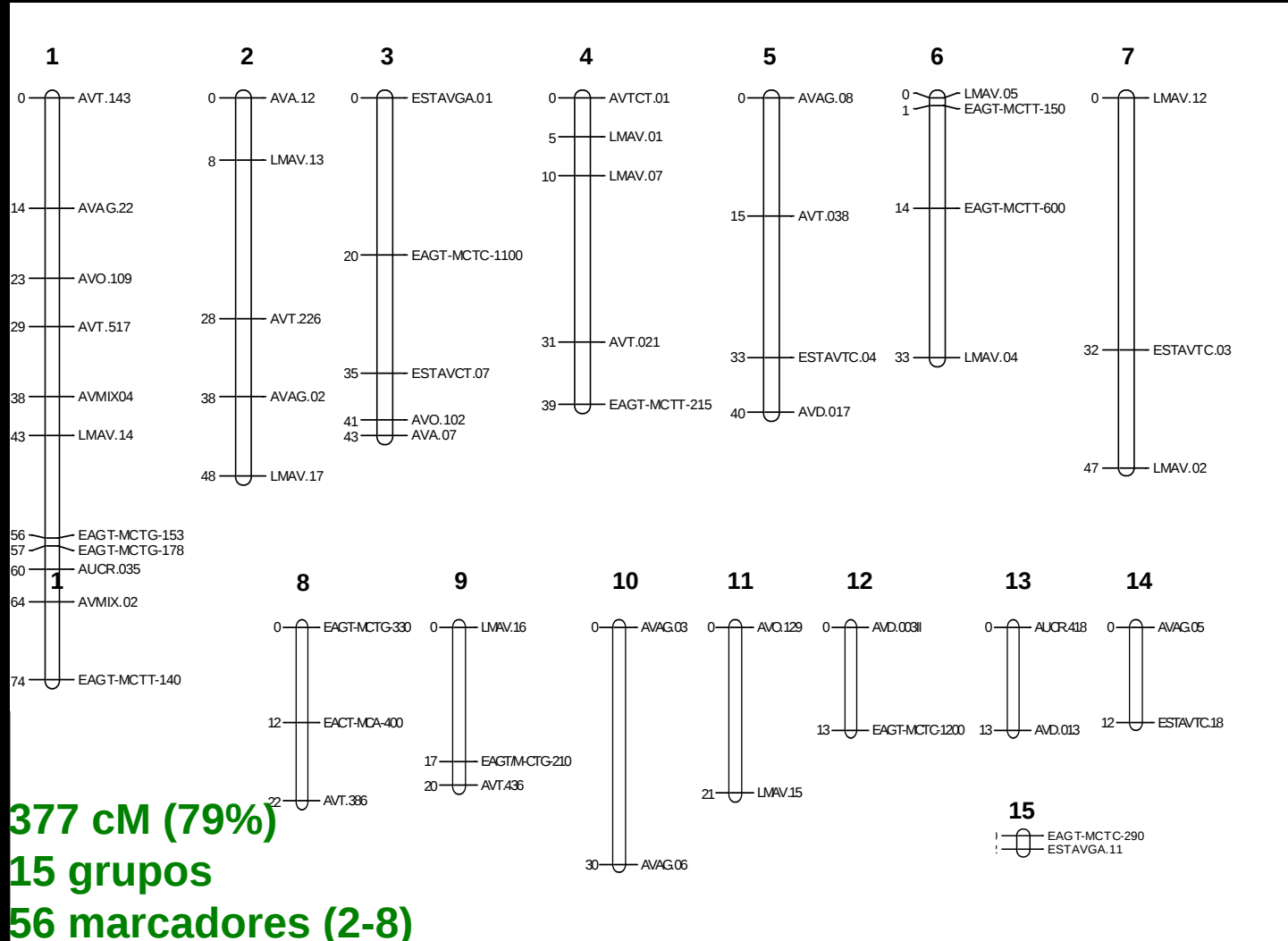
TIPO MARCADORES	TOTAL	1:1:1:1	1:2:1	3:1	1:1
SSRs	57	38 (67%)	2 (3%)	-	17 (30%)
AFLPs	42	-	-	6 (14%)	36 (86%)
TOTAL	99	38 (39%)	2 (2%)	6 (6%)	53 (53%)

DESCRIPCIÓN DEL MAPA

LOD $\geq$ 4; fr rec < 0.4	SSRs	SSRs + AFLPs
MARCADORES LIGADOS	36 (84%)	56 (65%)
GRUPOS DE LIGAMIENTO $\geq$ 3m	5	9
GRUPOS DE LIGAMIENTO 2m	6	6
cM	256	377
cM / marcador	7	6.7

13 marcadores distorsionados: 5 SSRs y 8 AFLPs

MAPA GENÉTICO “CÓNSULA 9” x “SCOTT”



PERSPECTIVAS



- Análisis de QTLs para la tolerancia a *Rosellinia necatrix*

- * Regiones genómicas implicadas
- * Marcadores ligados



- Añadir más marcadores al mapa: 12 grupos de ligamiento

- * AFLPs
- * SSRs de la genoteca

Mapa de referencia para otras poblaciones