



Sociedad
Española
de **Ciencias**
Hortícolas

90

Septiembre 2022

ACTA DE HORTICULTURA

**Comunicaciones Técnicas
Sociedad Española de
Ciencias Hortícolas**

**X Congreso Nacional de
Mejora Genética de Plantas**

**Editores:
Rosa Ana Malvar
Pedro Fiz Rocha**

Pontevedra, 19-22 de septiembre 2022

63. Análisis de asociación (GWAS) para la fecha de cosecha y caracteres de calidad en el programa de mejora genética de ‘Melocotón de Calanda’ del CITA

Celia M. Cantín^{1,3*}, Jerome Grimplet^{2,3}

¹Estación Experimental de Aula Dei-CSIC, Avda. Montañana 1005, 50059, Zaragoza

²Departamento de Ciencia Vegetal, Centro de Investigación y Tecnología de Aragón (CITA), Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España.

³Instituto Agroalimentario de Aragón– IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Zaragoza, España

*Autor para correspondencia: cmcantin@eead.csic.es

Palabras clave: calidad de fruto, aptitud postcosecha, madurez tardía, genes candidatos, genotipado

RESUMEN

Este trabajo se enmarca dentro del ‘Programa de Mejora Genética del Melocotón de Calanda’ que se lleva a cabo en el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). El objetivo de este programa es la selección de nuevas variedades de melocotón amarillo tardío de carne no fundente que pueda comercializarse bajo la D.O.P. ‘Melocotón de Calanda’. Los objetivos de mejora son una excelente calidad organoléptica, buena aptitud postcosecha, buen comportamiento agronómico, y fechas de maduración que cubran los huecos actuales en la campaña, con el fin de poner a disposición del consumidor un melocotón de calidad extraordinaria que a su vez sea rentable para el productor.

En el marco de este programa de mejora genética se ha llevado a cabo el estudio de la segregación de caracteres de interés y su control genético en esta tipología de melocotón, con el fin último del desarrollo de marcadores moleculares para selección asistida. Para ello se han fenotipado 446 individuos provenientes de 4 familias segregantes durante 4 campañas de recolección para atributos relacionados con la calidad del fruto, como la fecha de madurez, el peso del fruto, el porcentaje de coloración del fruto, el contenido en sólidos solubles, firmeza, calibre y la acidez del fruto. Además, se han genotipado 193 individuos con fenotipos más extremos, junto con sus parentales, mediante el array ‘Illumina peach SNP chip’ (9+9K). Un análisis de asociación del genoma completo (GWAS) nos ha permitido identificar varias zonas del genoma asociadas con el control de la fecha de madurez, así como con distintos parámetros claves en la calidad del fruto, en esta tipología de melocotón de carne amarilla no fundente y de madurez extra tardía.

INTRODUCCIÓN

Aragón es la comunidad autónoma con mayor producción de melocotón y nectarina a nivel nacional, con más de 18.000 ha. En esta comunidad se encuentra la única Denominación de Origen Protegida de melocotón del mundo, el ‘Melocotón de Calanda’, concedida por tratarse de un cultivo tradicional, ligado al territorio y por su excelente calidad. Su producción en los últimos años ha sido de unas 3.500 toneladas, lo que viene a representar entre el 15 y 20% del melocotón tardío producido en la zona.

Paralelamente a la creación de esa DOP en 2009, en 2008 se iniciaron en el Centro de Investigación y Transferencia Agroalimentaria de Aragón (CITA) las actividades del Programa de Mejora genética del melocotón de Calanda, con el objetivo final de obtener

nuevas variedades de melocotón amarillo tardío de carne dura con características agronómicas y de calidad mejoradas que pudiesen comercializarse bajo esta marca.

El control genético de caracteres de calidad como la fecha de madurez, la coloración roja de la piel, o el contenido en SSC y la acidez del fruto, han sido ampliamente estudiados en distintas familias segregantes en los últimos años (Cantín et al., 2010; Eduardo et al., 2011; Pirona et al., 2013; Nuñez-Lillo et al., 2015; Elsadr et al., 2019; Font i Forcada et al., 2019; Lobato et al., 2021). Estos estudios han permitido identificar las zonas del genoma que controlan algunos de estos caracteres, e incluso identificar genes candidatos. También se han desarrollado marcadores moleculares tipo SSR o SNP para su utilización en los programas de mejora. Sin embargo, sólo una pequeña parte de estos estudios se han realizado con material español (Font i Forcada et al., 2019; Mas-Gómez et al., 2022) y ninguno de ellos sobre este material singular de carne no fundente y maduración extra tardía que define al ‘Melocotón de Calanda’.

Así, el objetivo de este trabajo es el estudio del control genético de caracteres de interés ligados a la fecha de cosecha y a la calidad del fruto en un material vegetal singular como es el material del programa de ‘Melocotón de Calanda’, con el fin último del desarrollo de marcadores moleculares para selección asistida de nuevos caracteres.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material vegetal utilizado en este proyecto pertenece al material obtenido en el marco del Programa de Mejora de Melocotón de Calanda, que se lleva a cabo en el CITA de Aragón desde 2008. En concreto se han utilizado 446 individuos provenientes de 4 familias segregantes obtenidas en cruzamientos de los años 2008-2009: ‘Catherina’ x ‘Calante’, ‘Calrico’ x ‘Calante’, ‘Calante’ x ‘Calprebor’ y una familia con tres posibles ancestros paternos (‘58GC76’ x ‘Calante’/‘Calrico’/‘Calemil’).

Estos 446 individuos se fenotiparon durante 4 campañas consecutivas para atributos relacionados con la calidad del fruto como la fecha de madurez, el peso del fruto (g), el porcentaje de coloración del fruto, contenido en sólidos solubles (SSC), y acidez titulable (AT) (g ác. málico/L). Para ello, se cosecharon 20 frutos de cada individuo en el momento de cosecha comercial (según color de fondo y firmeza), y se transportaron inmediatamente al laboratorio donde se analizaron los parámetros mencionados.

De los 446 individuos fenotipados, se llevó a cabo una selección de 193 individuos con el criterio de maximizar la diversidad fenotípica para los caracteres estudiados. Se tomaron muestras de hoja de todos los individuos seleccionados, se extrajo el ADN y se llevó a cabo su genotipado mediante el array ‘Illumina peach SNP chip’ (9+9K).

Los genomas de los parentales, así como de otras variedades comerciales importantes y reconocidas en el pliego de condiciones de la D.O. Melocotón de Calanda (‘Jesca’, ‘Evaisa’, ‘Calejos’, ‘8 del Mas’, ‘Calprebor’, ‘Calemil’, ‘Calrico’, ‘Calante’ y ‘58GC76’), fueron genotipados y secuenciados (WGS) mediante la tecnología Illumina. En el caso de la variedad ‘Catherina’, se utilizaron los datos de un análisis previo realizado por colaboradores del IRTA con un array de SNPs de 9k.

Para identificar SNPs polimórficos en los individuos e identificar correctamente a todos los padres, se llevó a cabo un análisis genético utilizando cada individuo como germoplasma independiente. Una vez identificados los padres por análisis de estructura de población, se repitió el análisis de polimorfismo utilizando los individuos como germoplasma independiente y a nivel intrafamiliar. Después del análisis de identificación de duplicados y curación de los datos de los padres con las secuencias genómicas, se llevó a cabo un análisis de asociación de genoma completo (GWAS). La evaluación de las asociaciones de rasgos con genotipo se realizó con Tassel5 versión 5.2.40 (Bradbury et al., 2007) usando un modelo GLM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las fechas de maduración de los 446 individuos de las 4 familias segregantes comprendieron desde mediados de agosto a mediados de octubre. Los datos de calidad de fruto fueron bastante consistentes durante las 4 campañas de estudio, aunque se observaron ligeras variaciones especialmente en el CSS y la AT. El CSS fue medio/elevado para todos los híbridos, alcanzando valores por encima de los 20°Brix. Por el contrario, la AT fue baja, lo que caracteriza a esta tipología de melocotón, con niveles entre 1.5 y 3.5 g ác málico/L.

El análisis genético, llevado a cabo utilizando cada individuo como germoplasma independiente, permitió identificar el progenitor real de una familia en la que no se tenía certeza de cuál era el parental masculino, pudiendo concluir que existen dos poblaciones con diferentes padres. También otro individuo fue asignado a su familia correcta.

Posteriormente, el análisis GWAS nos permitió identificar un área en el cromosoma 4 (en torno a 11 Mbp) fuertemente correlacionada con la fecha de maduración (Fig. 1). Otras regiones del cromosoma 4 se correlacionaron en menor medida con la fecha de maduración, y también con el CSS (2 regiones en torno a 7,1 Mbp y 11 Mbp) y con la AT (en torno a 4,5 Mbp). Se identificó un único SNP en el cromosoma 6 que se correlaciona con el peso, el CSS y la fecha de maduración, y dos zonas del cromosoma 8 que se correlacionan con la relación CSS/AT.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto ‘Mejora genética de Melocotón de Calanda’ (2019-2021), financiado en la convocatoria ‘FITE2018’ (Fondo de Inversiones para Teruel) de la Administración General del Estado y el Gobierno de Aragón. Los autores agradecen al Dr. Iban Eduardo del IRTA-CRAG por la cesión de los datos de genotipado de la variedad ‘Catherina’ y por su colaboración en este trabajo.

REFERENCIAS

- Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y., & Buckler, E. S. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23, 2633–2635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>
- Cantín, C. M., Gogorcena, Y., & Moreno, M. Á. (2010). Phenotypic diversity and relationships of fruit quality traits in peach and nectarine [*Prunus persica* (L.) Batsch] breeding progenies. *Euphytica*, 171, 211. <https://doi.org/10.1007/s10681-009-0023-4>
- Eduardo, I., Pacheco, I., Chietera, G., Bassi, D., Pozzi, C., Vecchiatti, A., & Rossini, L. (2011). QTL analysis of fruit quality traits in two peach intraspecific populations and importance of maturity date pleiotropic effect. *Tree Genetics & Genomes*, 7, 323–335. <https://doi.org/10.1007/s11295-010-0334-6>
- Elsadr, H., Sherif, S., Banks, T., Somers, D., & Jayasankar, S. (2019). Refining the Genomic Region Containing a Major Locus Controlling Fruit Maturity in Peach. *Scientific Reports*, 9, 7522. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44042-4>
- Font i Forcada, C., Guajardo, V., Chin-Wo, S. R., & Moreno, M. Á. (2019). Association Mapping Analysis for Fruit Quality Traits in *Prunus persica* Using SNP Markers. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.02005>
- Lobato, M., Guajardo, V., Solís, S., Martínez-García, P. J., Gasic, K., & Moreno, M. A. (2021). Genetic study of flower traits in a segregating peach-almond progeny. *Acta Horticulturae*, 1307, 63–70. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1307.10>
- Más-Gómez, J., Cantín, C. M., Moreno, M. Á., & Martínez-García, P. J. (2022). Genetic Diversity and Genome-Wide Association Study of Morphological and Quality Traits in

Peach Using Two Spanish Peach Germplasm Collections. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.854770>

- Núñez-Lillo, G., Cifuentes-Esquivel, A., Troglio, M., Micheletti, D., Infante, R., Campos-Vargas, R., Orellana, A., Blanco-Herrera, F., & Meneses, C. (2015). Identification of candidate genes associated with mealiness and maturity date in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] using QTL analysis and deep sequencing. *Tree Genetics & Genomes*, 11, 86. <https://doi.org/10.1007/s11295-015-0911-9>
- Pirona, R., Eduardo, I., Pacheco, I., da Silva Linge, C., Miculan, M., Verde, I., Tartarini, S., Dondini, L., Pea, G., Bassi, D., & Rossini, L. (2013). Fine mapping and identification of a candidate gene for a major locus controlling maturity date in peach. *BMC Plant Biology*, 13, 166. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-166>

FIGURAS

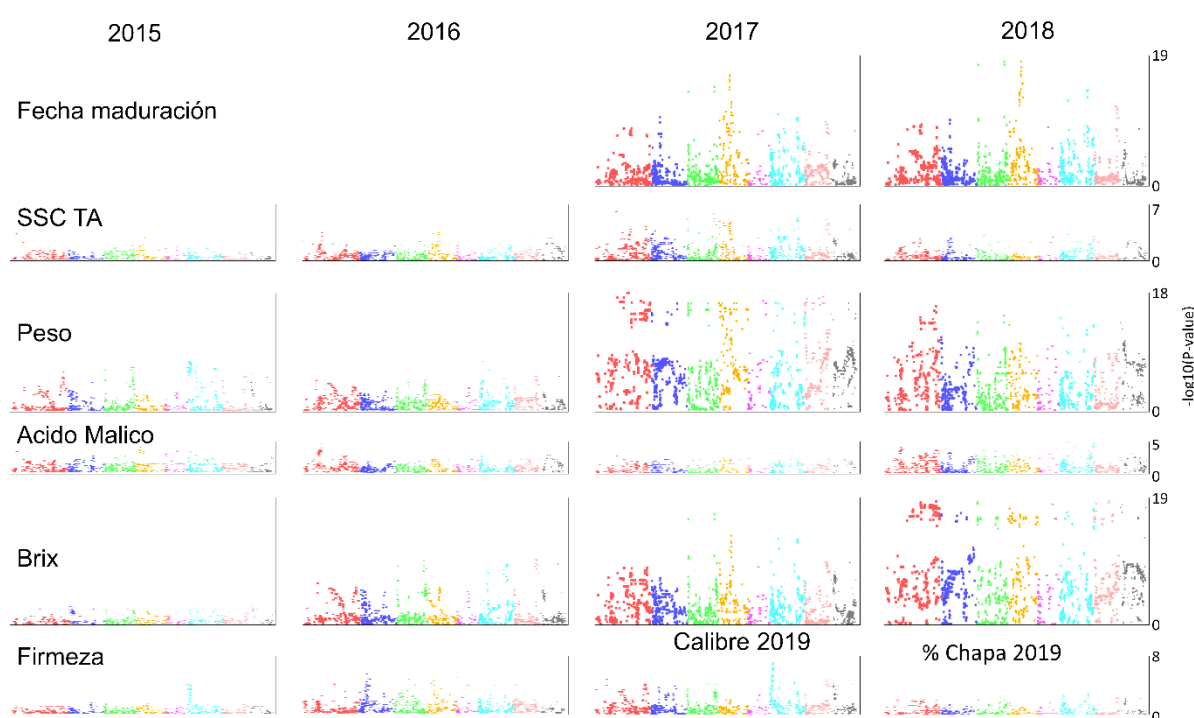


Fig. 1. Resultados del análisis de genoma completo (GWAS) para cada una de las campañas en las que se hizo el análisis. Cada color representa un cromosoma distinto.