

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL GUAYABO DEL PAIS

Pritsch C¹, Quezada M¹., Garcia AAF²., Alvarez M¹., Machado G¹., Bernal J¹., Cazzulo Y¹., Malosetti M³., Zaccari F⁴., Rivas, M¹., Cabrera D⁵., Vignale B⁶.

¹Depto de Biología Vegetal, ⁴Depto de Producción Vegetal y ⁶ Estación Experimental Salto, Facultad Agronomía, Universidad de la República, Uruguay; ²Depto de Genética, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidad de São Paulo, Brasil; ³Biometrics, Wageningen University, Holanda; ⁵Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIA, Las Brujas. Av. E. Garzón 809 CP 12900, Montevideo, Uruguay. clara@fagro.edu.uy

Palabras clave: *Acca sellowiana*, mapa genético, diversidad



Fig. 1. Venta de fruta de guayabo del país en verdulería de Montevideo, Uruguay (marzo 2014). Nótese que las demás frutas de la imagen son todas de origen asiático.

Introducción

El guayabo del país o guayaba [*Acca sellowiana* (Berg.) Burret] junto con su pariente cercano guayabo brasileiro (*Psidium guajava* L.) son especies frutales de la familia de las mirtáceas originarias del continente americano, reconocidas en la cultura culinaria de estas regiones. El flavor distintivo de los frutos del guayabo del país es también reconocido por el mercado internacional de fruta fresca y procesada mientras que la riqueza en componentes bioactivos de la fruta que le otorgan un alto valor nutracéutico y terapéutico son resaltados por el mercado de alimentos funcionales (Weston, 2010). El cultivo comercial de esta especie es aún incipiente en el centro de origen (Brasil y Uruguay) mientras está consolidado en otros países tales como Nueva Zelanda, Colombia, Estados Unidos, España e Israel. La mayoría de los cultivares elite se han desarrollado en estos países probablemente a partir de un reducido número de introducciones colectadas en América del sur (Thorp y Bielecki, 2002). Recientemente, cuatro cultivares nuevos fueron liberados en Brasil (Ducroquet et al., 2007, 2008). En los últimos años, se ha visto un interés creciente por la fruta del guayabo. Por ejemplo, la producción de Nueva Zelanda (1200 toneladas anuales) se ha incrementado tres veces desde 1981 con ventas en el mercado interno de un valor equivalente a 1.2 millones de dólares americanos (Plant and Food Research Institute of New Zealand Ltd, 2011). El guayabo del país representa una atractiva alternativa comercial para los productores frutícolas en Uruguay (Fig. 1; Vignale et al., 2006, 2012). Es considerada la especie prioritaria en el Programa

Nacional de Mejoramiento de Frutas Nativas que desarrolla desde el año 2000 la Facultad de Agronomía e INIA. La mejora de la calidad de la fruta (tamaño, sabor, espesor de cáscara, rendimiento de pulpa, uniformidad) es el objetivo principal de mejoramiento.

La diversidad genética disponible en la región es abundante

Un número importante de poblaciones silvestres y de materiales domesticados del sur de Brasil y noreste de Uruguay ha sido analizado en los últimos años. Los estudios revelaron que en ambos países se detecta una alta diversidad en la expresión de caracteres de calidad de fruta tales como forma, tamaño, color, flavor (Ducroquet et al., 2000; Puppo et al., 2009; Thorp y Bielecki, 2002). Estos resultados son explicados en parte por una gran variabilidad a nivel de la información genética caracterizada por técnicas moleculares (Baccino et al., 2009; Quezada et al., 2009; Santos et al., 2007). En contraste, la diversidad molecular entre los cultivares modernos es estrecha soportando la idea de que los cultivares modernos probablemente deriven de un número muy reducido de accesiones silvestres (Dettori y Palombi, 2000; Thorp y Bielecki, 2002). El desarrollo de nuevos cultivares locales así como la mejora de los cultivares modernos se beneficiaría de la importante diversidad genética disponible en el centro de origen. Para que dicha diversidad genética pueda ser utilizada de forma eficiente es necesario abordar diferentes estudios genéticos que en definitiva facilitarán el diseño de las mejores estrategias para aprovechar la diversidad genética disponible y la posibilidad de dirigir el mejoramiento al tipo de planta y de fruta que buscamos.

Los estudios genéticos en guayabo del país son casi inexistentes. Afortunadamente, esta especie posee una serie de ventajas que facilitan la realización tanto de estudios de genética clásica como de análisis más modernos que involucren la caracterización de todo el genoma: i) es diploide con número cromosómico $2n = 22$; ii) tiene genoma pequeño (245 Mpb/1C; da Costa et al., 2008); iii) la secuencia completa del genoma de *Eucalyptus grandis* ($2n = 22$; 611 Mpb/1C; Praca et al., 2009) también de la familia mirtácea, está disponible (Grattapaglia et al., 2012). El guayabo es una especie predominantemente alógama para la cual no se dispone de líneas endocriadas. La propagación vegetativa es posible pero aún no se dispone de técnicas eficientes y aplicables a cualquier genotipo.

Los mapas genéticos como herramienta en estudios genéticos

Para la mayoría de los caracteres valiosos para la producción como fecha de floración, fecha de cosecha, resistencia a plagas y la mayoría de los vinculados a la calidad de fruta se espera que la genética sea compleja y muchas veces asociada a la participación de muchos genes. Los abordajes genéticos clásicos basados en las frecuencias de cada tipo de plantas en progenies de cruzamientos permiten estimar un número aproximado de los genes responsables de la manifestación del carácter. Sin embargo, desde hace más de 30 años, la genética de los caracteres complejos o cuantitativos ha sido potenciada gracias a la inclusión de los mapas genéticos en el análisis. Los **mapas genéticos** son diagramas del genoma o conjunto de cromosomas de una especie en los cuales se representan las localizaciones relativas de un número de sitios o secuencias de ADN. Podría decirse que sería análogo a un croquis de un dibujo acabado. De esta manera, el análisis genético de un carácter que incluye al mapa genético como herramienta, permite identificar de forma más sólida no solo i) el número de genes participantes, sino también ii) la contribución (favorable o desfavorable) que realiza cada uno de ellos al fenotipo de la planta y iii) su particular localización en el genoma. Estos tres tipos de datos que se asocian a cada carácter constituyen la **arquitectura genética del**

carácter ya que permite describir la distribución en el espacio (genoma) de aquellas regiones más relevantes en la determinación por ejemplo de la forma del fruto, o de su nivel de acidez. Numerosos mapas genéticos han sido contruidos para varias especies de frutales de gran importancia como manzano, kiwi, olivos y duraznos entre otros (Joobeur et al., 1998; Khadari et al., 2010; Liebhard et al., 2003; Testolin et al., 2001). Dichos mapas han sido usados para caracterizar la arquitectura genética de diferentes parámetros de calidad de fruta (Chagné et al., 2012a,b; Mejía et al., 2007) entre otros usos.

Con la meta de estudiar la arquitectura genética de varios caracteres de floración y calidad de fruta del guayabo nuestro equipo comenzó como primera etapa con la construcción del primer mapa genético integrado de esta especie. Para ello, se analizó el ADN de 160 plantas hermanas enteras derivadas de un cruzamiento entre la planta TCO (madre) con BR (padre), realizado en 2008 en el Programa de Mejoramiento de Facultad de Agronomía e INIA (Fig. 2). TCO y BR contrastan en varios caracteres. Mientras que TCO es una planta silvestre colectada en Tacuarembó, de fruta pequeña, con pulpa sabrosa y cáscara lisa, fina y verde, BR proviene de una quinta comercial del sur de Uruguay, tiene frutos grandes pero de sabor tenue, con cáscara rugosa, gruesa y verde.



Fig. 2. Poblaciones de TCO x BR (izquierda, 160 plantas, Estación Experimental Salto, Facultad de Agronomía) y TCO x DEL (derecha, 183 plantas, INIA Salto). Ambas progenies se instalaron en el 2010.

En el análisis se utilizaron diferentes tipos de marcadores moleculares (más detalles en Quezada et al 2014). El mapa obtenido (Fig. 3) no es completo ya que el número de grupos de ligamiento (10) es menor al número de cromosomas diferentes (11). Al tratarse de una primera versión, este mapa genético es considerado preliminar. Sin embargo, es un diagrama robusto sobre el cual construir nuevas versiones del mapa al incluir un número mayor de marcadores moleculares.

Actualmente iniciamos la segunda etapa de nuestra línea de trabajo. En este caso nos proponemos: i) desarrollar un mapa genético mucho más detallado (más saturado en marcadores moleculares) utilizando tecnología genómica de última generación; ii) relevar datos de floración y calidad de fruta (color, forma y tamaño de fruto, espesor de cáscara, rugosidad de cáscara, firmeza de cáscara, color de pulpa, peso de pulpa, acidez titulable, sólidos solubles totales, peso de 100 semillas; Fig. 4) durante tres años en cada planta de la población TCO x BR, y en otra población similar en tamaño que se agrega TCO x DEL; ambas localizadas en el departamento de Salto (Fig. 2); y iii) para aquellos caracteres que muestren evidencias claras de segregación, determinar la arquitectura genética de los mismos. Este trabajo cuenta con financiación del Fondo María Viñas de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) y de la Universidad de la República (Programa Investigación y Desarrollo y Programa de Apoyo a la Investigación Estudiantil) y colaboración de expertos radicados en grupos de excelencia en genética de plantas de Brasil y Holanda. El presente proyecto aportará herramientas genómicas que permitirán identificar la arquitectura genética de los caracteres de interés comercial y a la vez permitirá seleccionar materiales superiores. La información generada asistirá la toma de decisiones dentro del Programa Nacional de Mejoramiento de Frutales Nativos y la metodología desarrollada será de utilidad para los programas de mejoramiento de otros frutales en Uruguay.

Referencias bibliográficas

- Baccino E, Quezada M, Rivas M, Puppo M, Pritsch C. 2009. Avances en estudios sobre la estructura genética de cuatro poblaciones silvestres de *Acca sellowiana* (Berg.) Burret. VII Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe. Pucón, Chile 1. 391-392.
- Chagné D, Krieger C, Rassam, M, Sullivan M, Fraser J, Andre C, Pindo M, Troglio M, Gardiner SE, Hery RA, Allan AC, McGhie TK, Liang WA. 2012a. QTL and candidate gene mapping for polyphenolic composition in apple fruit. *BMC Plant Biology* 12, 12.
- Chagné D, Crowhurst RN, Troglio M, Davey MW, Gilmore B et al. 2012b. Genome-wide SNP detection, validation and development of an 8K SNP array for apple. *PLoS One* 7 (2).e31745.
- da Costa IR, Dornelas MC, Forni-Martins ER. 2008. Nuclear genome size variation in fleshy-fruited neotropical Myrtaceae. *Plant Systematics and Evolution* 276:209-217.
- Dettori MT, Palombi MA. 2000. Identification of *Feijoa sellowiana* Berg. accessions by RAPD markers. *Scientia Horticulturae* 86:279-290.
- Ducroquet JPHJ, Hickel ER, Nodari RO. 2000. Goiabeira-serrana (*Feijoa sellowiana*). Funep, Sao Paulo.
- Ducroquet JPHJ, Santos KL, Andrade ER, Boneti JIS, Bonin V, Nodari RO. 2007. As primeiras cultivares brasileiras de goiabeira serrana: SCS411 Alcantara e SCS412 Helena. *Agropecuaria Catarinense* 20:77-80.
- Ducroquet JPHJ, Nunes EC, Guerra MP, Nodari RO. 2008. Novas cultivares brasileiras de goiabeira serrana: SCS 414-Mattos e SCS 415 Nonante. *Agropecuaria Catarinense* 21:79-82.
- Grattapaglia D, Vaillancourt RE, Sheperd, Thumma BR, Foley W, Kulheim C, Potts BM, Myburg AA. 2012. Progress in Myrtaceae genetics and genomics: *Eucalyptus* as the pivotal genus. *Tree Genetics and Genomes* 8:463-508.
- Jobeur T, Viruel MA, De Vicente MC, Jauregui B, Ballester J, Dettori M, Verde I, Truco MJ, Messegue R, Battle I, Quarta R, Dirlwanger E, Arús P. 1998. Construction of a saturated linkage map for *Prunus* using an almond x peach F2 progeny. *Theoretical and Applied Genetics* 97:1034-1041.

Khadari B, Aabidine AZE, Grout C, Sadok IB, Doliez A, Moutier N, Santoni S, Costes E. 2010. A genetic linkage map of olive based on amplified fragment length polymorphism, intersimple sequence repeat and simple sequence repeat markers. *Journal of American Society of Horticulture* 135:548-555.

Liebhard R, Koller B, Gianfranceschi L, Gessler C. 2002. Creating a saturated reference map for the apple (*Malus x domestica* Borkh.) genome. *Theoretical and Applied Genetics* 106:1497-1508.

Mejia N, Gebauer M, Munoz L, Hewstone N, Munoz C, Hinrichsen P. 2007. Identification of QTLs for seedlessness, berry size and ripening date in a seedless x seedless table grape progeny. *American Journal of Enology and Viticulture* 58:499-507.

Plant and Food Research Institute of New Zealand Ltd. 2014. Fresh Facts New Zealand Horticulture 2011. Corporate publication, Auckland, <http://www.freshfacts.co.nz/file/fresh-facts-2011.pdf> (consultado 9 noviembre 2012)

Praca MM, Carvalho CR, Ribeiro C, Novaes DB. 2009. Nuclear DNA content of three *Eucalyptus* species estimated by flow and image cytometry. *Australian Journal of Botany* 57:524-531.

Puppo M, Franco J, Rivas . 2009. Prospección y caracterización de poblaciones silvestres de *Acca sellowiana* (Berg.) Burret (Guayabo del país) en Uruguay. VII Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Carib. Pucón, Chile 1. 137-138

Quezada M, Vignale B, Franco J, Pritsch C. 2009. Estrategia para identificar marcadores RAPD eficientes en la caracterización de germoplasma de guayabo del país *Acca sellowiana* (Berg.) Burret. . VII Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe. Pucón, Chile 1. 353-354.

Quezada M, Pastina MM, Ravest G, Silva P, Vignlae B, Cabrera D, Hinrichsen P, Garcia AAF, Pritsch C. 2014. A first genetic map of *Acca sellowiana* based on ISSR, AFLP and SSR markers. *Scientia Horticulturae* 169:138-146.

Santos KL, Welter LJ, Mesquita AC, Guerra MP, Ducroquet JPHJ, Nodari RO. 2007. Transference of microsatellite markers from *Eucalyptus spp* to *Acca sellowiana* and the succesful use of this technique in genetic characterization. *Genetics and Molecular Biology* 30:73-79.

Testolin R, Huang WG, Lain O, Messina R, Vecchione Q, Cirpiani G. 2001. A kiwifruit (*Actinidia spp.*) linkage map based on microsatellites and integrated with AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics* 103:30-36.

Thorp G, Bielecki R. 2002. In: Thorp G, Bielecki R (Eds.). *Feijoas: Origin, Cultivation and Uses*. David Bateman Ltd. Auckland.

Vignale B, Camussi G, Cabrera D, Nebel JP, Cunda N, Pritsch C. 2006. Avances en la selección del guayabo del país *Acca sellowiana* (Berg.) Burret en Uruguay. Em: III Simposio Nacional do Morango; II Encontro de Pequenas Frutas Nativas do Mercosur, Embrapa Clima temperado 155-160p.

Vignale B, Cabrera D, Nebel JP, Lombardo P, Rodriguez P, Zoppolo R, Pereira C . 2012. Selección y mejoramiento de frutas nativas. 6to Encuentro de Frutos nativos, INIA Serie de Difusión 679 38-44.

Weston RJ. 2010. Bioactive products from fruit of the feijoa (*Feijoa sellowiana*, Myrtaceae): a review. *Food Chemistry* 121:923-926.