

# 'Genotipado mediante secuenciación de la colección de germoplasma de níspero del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias'

Ángela Polo-Oltra, María Luisa Badenes, Elena Zuriaga\*

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA)

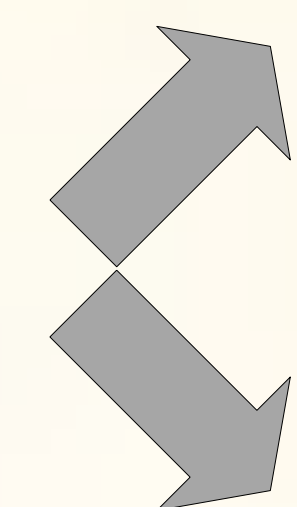
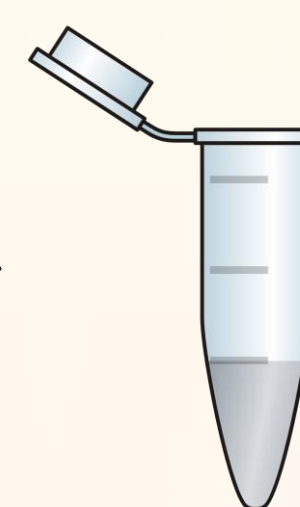
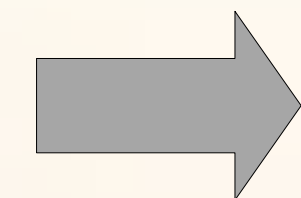
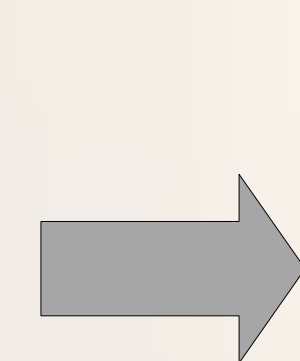


\* garcia\_zur@gva.es

## Resumen

La colección de germoplasma de níspero del IVIA cuenta con 120 variedades, de las cuales 20 proceden de mutaciones identificadas de la variedad *Algerie* y el resto de diversos países donde el cultivo es importante, sobre todo de China, país de origen de la especie. La caracterización detallada de cualquier colección de germoplasma es un requisito fundamental para poder aprovechar al máximo estos recursos. En este trabajo presentamos el genotipado mediante secuenciación de 76 accesiones de la colección para estudiar su diversidad a escala genómica. Tras realizar un experimento piloto empleando 2 enzimas de restricción (*ApeKI* y *PstI*) para comprobar su idoneidad en el caso de níspero, se eligió *ApeKI* para la construcción de la librería y secuenciación del resto de muestras. Se obtuvo un promedio de 3 millones de lecturas por muestra de las que mapearon frente al genoma de referencia un 83,66%. En la búsqueda de variantes frente al genoma de referencia se identificaron entre 58.153 y 140.162 posiciones variables por muestra, con una media de 105.911. En total se identificaron 290.279 posiciones variables en las 76 muestras, distribuidas en los 17 cromosomas. Tras un filtrado exhaustivo, seleccionamos cerca de 9.000 marcadores de tipo SNPs e INDELs con los que evaluamos la diversidad y las relaciones entre las accesiones. Los resultados obtenidos abren la puerta al uso de marcadores para identificación varietal. Además, nos permitirán, mediante la combinación con datos morfológicos y pomológicos, realizar mapeo por asociación para la identificación de regiones del genoma involucradas en el control de caracteres de interés para la mejora de esta especie.

## 1. Estudio piloto con 4 accesiones: extracción de ADN, digestión y secuenciación



**ApeKI**

5'- G C W G C -3'  
3'- C G W C G -5'

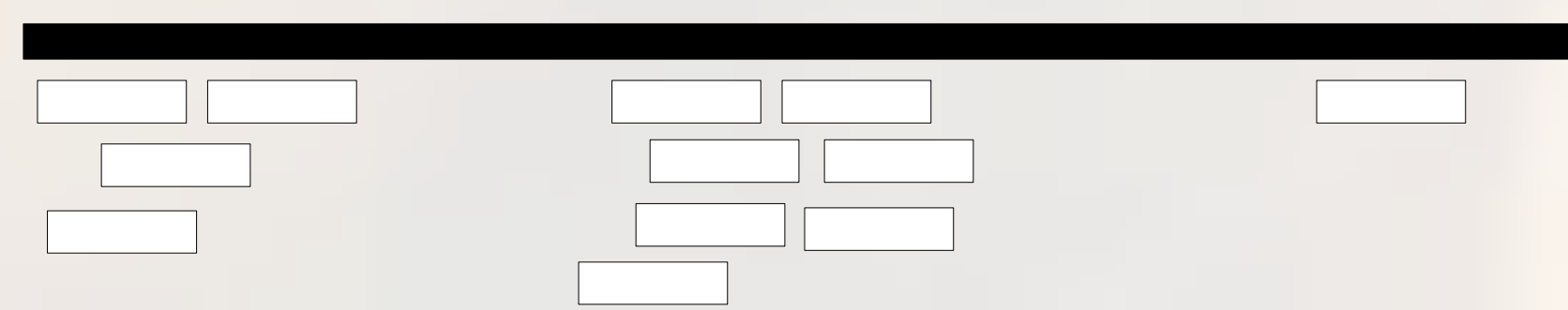
**PstI**

5'- C T G C A G -3'  
3'- G A C G T C -5'



Tabla 1. Resultados del estudio piloto con los enzimas *ApeKI* y *PstI*.

Genoma de referencia: Jiang et al., 2020



#Sample	Parejas de lecturas		% Lecturas mapeadas Cobertura ≥ 5				SNVs		SNVs Cobertura	
	ApeKI	PstI	ApeKI	PstI	ApeKI	PstI	ApeKI	PstI	ApeKI	PstI
AI8653	1461040	1591339	85,37	91,93	1,4	0,2	57259	5620	17,0	222,8
AI8654	1375992	1098840	86,00	91,38	1,3	0,1	47310	4443	16,0	167,5
AI8655	618698	1379383	86,48	91,84	0,8	0,2	37580	4717	8,1	205,2
AI8656	644541	1263616	87,23	92,31	0,8	0,2	44004	5630	9,0	179,4

(SNVs: variantes de un único nucleótido)

## 2. Secuenciación de 76 accesiones empleando *ApeKI* como enzima de restricción

	Lecturas	% Mapeadas	SNV	HOM_REF	HET	HOM_ALT	% HET
PROMEDIO	3.085.927	83,66	105.911	103.637	47.576	58.335	44
MAX	5.315.484	87,12	140.162	127.921	77.577	73.227	55
MIN	1.139.582	78,03	58.153	78.032	21.044	37.109	28

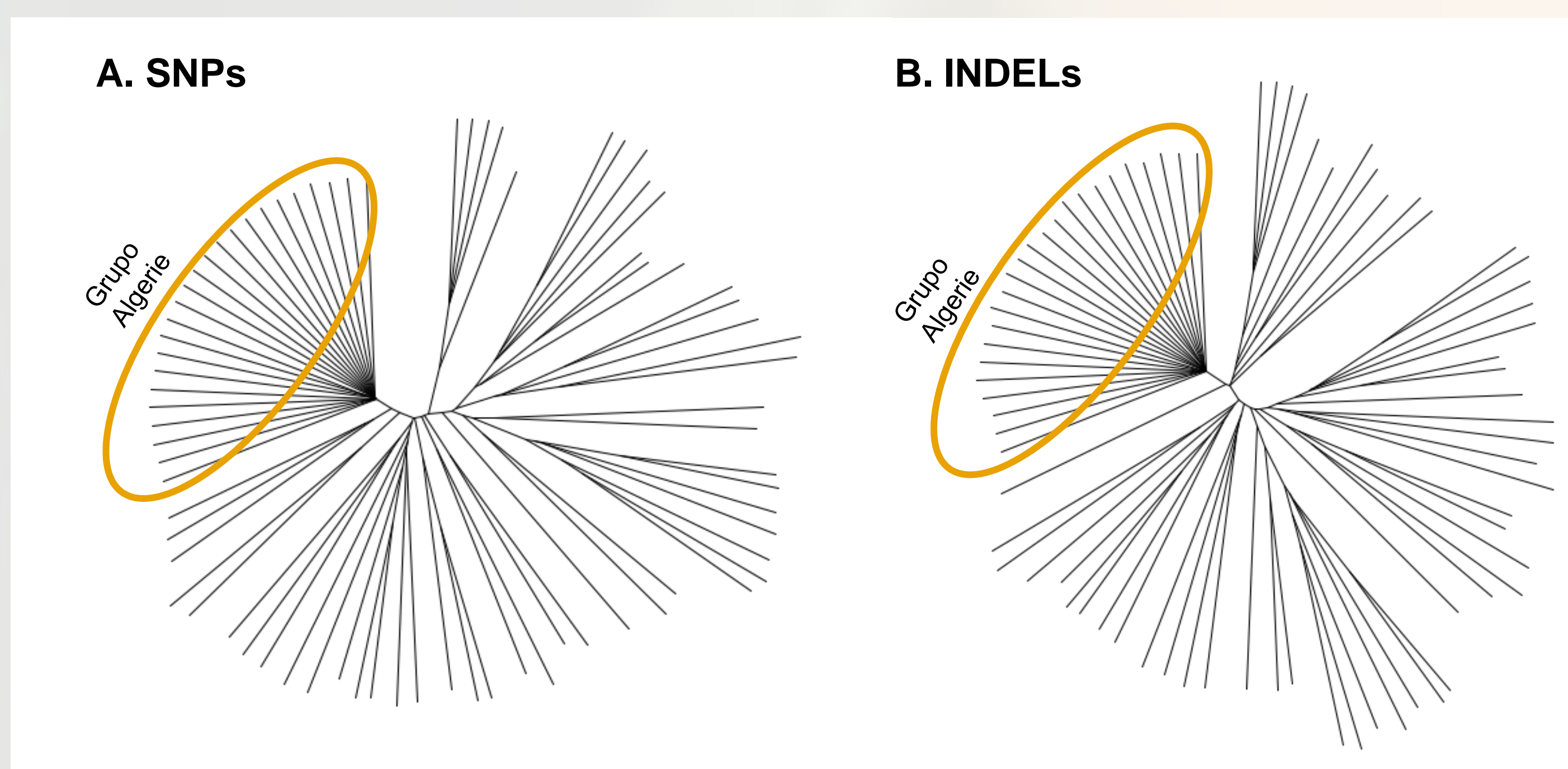


Figura 1. Árboles filogenéticos NJ de las 76 accesiones en estudio empleando 8.194 SNPs (A) y 762 INDELs (B).

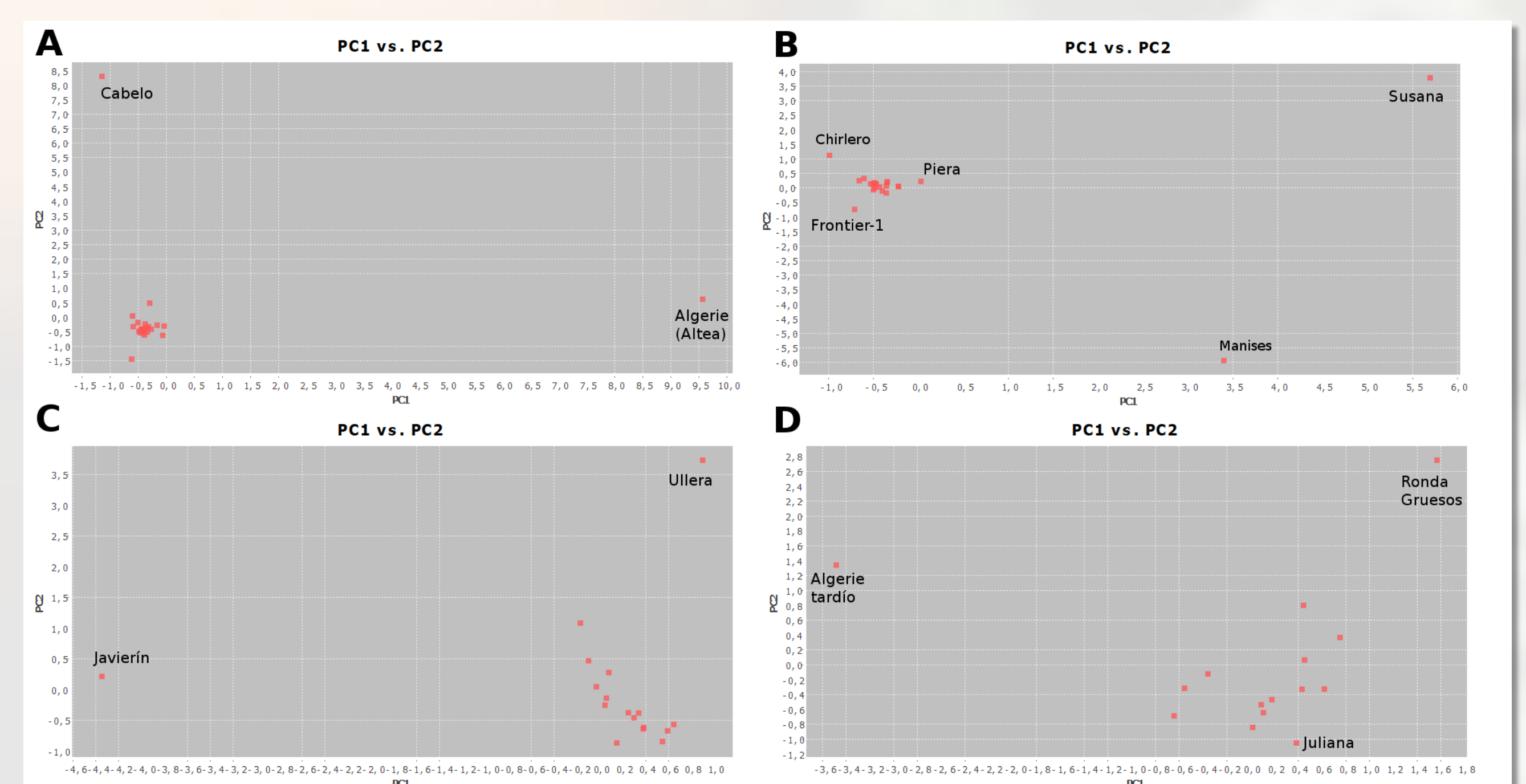


Figura 2. Serie de PCAs con las accesiones del grupo *Algerie* empleando 8.194 SNPs, eliminando secuencialmente las accesiones indicadas.

## Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por la Generalitat Valenciana mediante los proyectos AICO/2020/036 e IVIA-52201 – AgroAlimVal y hemos contado con la colaboración de Ruchey, Cooperativa Agrícola de Callosa d'en Sarrià. A.P.O. está financiada por una beca ACIF 2021 de la Generalitat Valenciana (DOCV 8959/24.11.2020).