CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL GERMOPLASMA DE ARRACACHA (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) EN COLOMBIA MEDIANTE MARCADORES SSRs FLUORESCENTES

Garnica-Montaña, Johanna Paola[1]; Rodríguez-Rodríguez, Oscar Jair[2]; Vallejo- Cabrera, Franco Alirio[3]

[1] Corporación colombiana de investigación agropecuaria - AGROSAVIA. Centro de Investigación Nataima - Kilómetro 9 vía, Espinal-Chicoral, Espinal, Colombia. https://orcid.org/0000-0003-3051-809X. e-mail: jgarnicam@agrosavia.co.

[2] North Dakota State University. 1401 Administration Ave., Fargo, ND 58102. Dakota del Norte, EE.UU. https://orcid.org/0000-0002-5430-5745

[3] Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Cra 32 # 12-00 Km 1 vía Candelaria, Palmira, Colombia. https://orcid.org/0000-0002-2739-0745

Introducción

La arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.) es una raíz tuberosa originaria de los Andes, con mayor área de cultivo en Brasil, seguido de Colombia, Ecuador y Venezuela. Esta especie es la única umbelífera domesticada de las Américas y se considera que Colombia, Ecuador y Perú son los centros de diversidad primaria del género y conservación de la especie. Sin embargo, no existe información concreta sobre diversidad genética de *A. xanthorrhiza* en Colombia. Por lo tanto, abordamos un análisis de diversidad genética a nivel morfológico y molecular de 93 accesiones de arracacha manejadas por el Sistema de Bancos de Germoplasma de la Nación para la Alimentación y la Agricultura (SBGNAA).

Metodología

Material vegetal

Se realizó la caracterización de 96 accesiones de Arracacha durante el 2016B en el Banco de Germoplasma ubicado en el Centro de Investigación La Selva, de las cuales, 84 accesiones provienen de colectas en seis municipios de Colombia (Antioquia, Boyacá, Cauca, Huila, Nariño y Tolima), cinco accesiones son provenientes de Perú (sin información concreta sobre el origen de estos materiales), dos materiales son regionales comúnmente utilizados en municipio de Cajamarca (Tolima), una accesión proveniente de semilla sexual y 4 accesiones no reportan datos de colecta. De cada material vegetal se utilizó una muestra de 20 gramos correspondiente a hojas jóvenes y brotes.

Caracterización molecular

Se realizo la extracción de ADN mediante Invisorb® Spin Plant Mini Kit (stratec), se identificó la concentración mediante el espectrofotómetro Colibrí, se seleccionaron y evaluaron 10 Microsatélites (SSR) desarrollados por Morillo et al., (2004) específicos para arracacha, estandarizados por Parra Fuentes et al., (2015) y certificados por Integrated DNA Technologies. La detección y el llamado de los alelos se realizó usando el programa GeneMapper® V.3.7 (Applied Biosystems) considerando las características pre-establecidas de fluorescencia, tamaño molecular y organización de los paneles en el sistema de secuenciación para análisis de fragmentos ABI 3730XL.

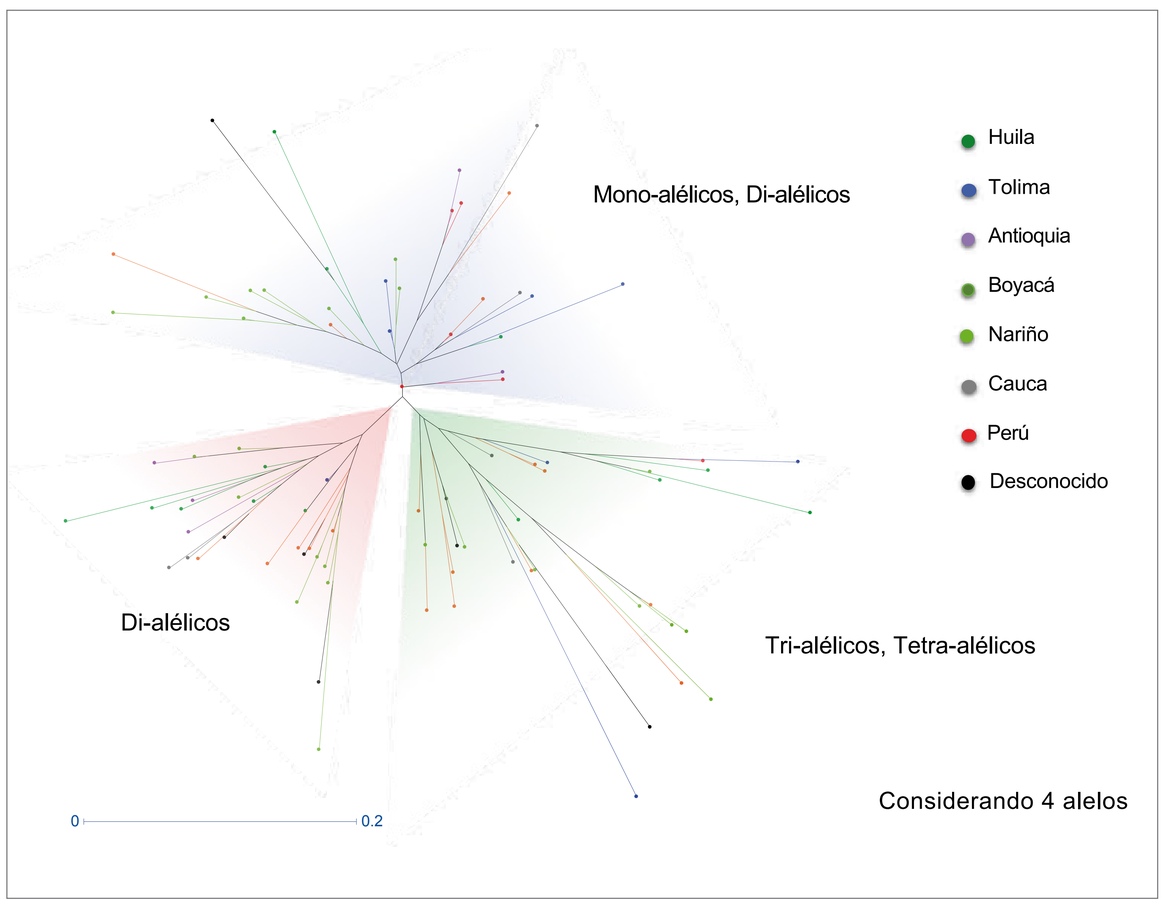
Resultados

Los caracteres morfológicos cualitativos como color del follaje, color de peciolo y hábito de crecimiento explicaron la mayor parte de la variabilidad genética, mientras la evaluación con 10 marcadores SSR fluorescentes identificó valores promedio de PIC 0.42, heterocigosidad 0.54 y diversidad genética de 0.47. El valor FST (0.038) indicó una considerable similitud genética entre las accesiones.

Tabla 1. Amplificación de 10 microsatélites SSR en Arracacha

No	SSR	SECUENCIA	Pb	PANEL
1	AxC27	F: AAGTTCGTATTGTGCTGCTGTAT	126, 131, 142, 149, 155, 156	1
		R: ATTGTGGCGTGGATGTGAAAAG		
2	AxC38	F: TAAAGCCTATAAACATCAAAA	164, 167, 168, 171, 172,173, 186	
		R: ACCCTCTCCCATCATAAC		
6	AxD55	F: AACCCGACTGAAATCCCAAAAT	241, 407, 408, 410, 411	
		R: GCAAAAAGACCGCACAATCAA		
10	AxC64	F: GAAATGATCTGCAACTGGAT	167, 168, 172, 174, 216	
		R: TCCCATCCTTCTTACATAT		
3	AxC85	F: TTGGGACTGGAACTTTGT	210, 238, 249, 277	2
		R: GTGTGCGTGATGTAATAAT		
4	AxD43	F: AATGGTGGTGTAGGTTTGAAG	178, 180, 186	
		R: AATTGTTATCTGAGTGCGTTGGTA		
8	AxD82	F: TGGAGAGGCTAATGCAAAATACT	154, 158, 168, 178, 180, 186	
		R: ATAAGCAGAACGCAAAACGACAT		
5	AxD72	F: GATACCAATAGGCGAAAGGAG	156, 164	3
		R: AGGGGTGGAGTAGCAATGTT		
7	AxD13	F: AACTTTGAACATGGTCTATTACTT	142, 148, 155, 156, 164, 165, 167, 168, 172	
		R: TGATGCCCACGACAAAGATA		
9	AxD85	F: TGCACGCATTGTAGAACT	156, 158, 164, 165, 172, 174, 176	
		R: CAAATGGACGTGGTATGT		

Los análisis de disimilaridad generaron tres agrupaciones principales, los cuales, estuvieron compuestos por individuos monoalélicos, dialélicos, y trialélicos y tetraalélicos. La obtención de la estructura poblacional se basó en la ploidía, y no, en el sitio de colecta de las accesiones. La presencia de alelos únicos puede estar soportando la diferenciación genética entre las accesiones estudiadas de arracacha. Este estudio es un primer acercamiento a los recursos fitogenéticos del banco de germoplasma de arracacha para futuros programas de mejoramiento en la especie.



* El color de las ramas corresponde al sitio de colecta (Departamento). Sombreado en Rojo (dialélicos), Azul (mono y di alélicos) y Verde (tri y tetraalélico) y se resaltan los grupos genéticos formados de acuerdo a perfil alélico y cercanía genética que comparten.

Figura 1. Árbol de dissimilaridad genética no enraizado considerando la matriz de datos tetra-alélica.

Conclusiones

- La presencia de alelos únicos puede estar soportando la diferenciación genética entre las accesiones de arracacha estudiadas.
- Este estudio es un primer acercamiento a los recursos fitogenéticos del banco de germoplasma de arracacha para futuros programas de mejoramiento en la especie.

Referencias Bibliográficas

Morillo, E., Second, G., Pham, J. L., & Risterucci, A. M. (2004). Development of DNA *microsatellite* markers in the Andean root crop arracacha: *Arracacia xanthorrhiza* Banc. (Apiaceae). Molecular Ecology Notes, 4, 680-682. https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00783.x

Parra Fuentes, M., Quintero Munévar, P., & Hernández Fernández, J. (2015). Selección de marcadores microsatélites (SSR's) para el análisis de variabilidad genética en siete cultivares de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*). Mutis, 5(2), 39-45. https://doi.org/10.1016/j.pec.2014.02.004

Agradecimientos

Los autores agradecen al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural del gobierno de Colombia (MADR) por la financiación de este estudio y la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA.