

MARCADORES MOLECULARES: IMPULSANDO LA MEJORA DE VARIEDADES DE FRESA Y DESCIFRANDO LAS CLAVES GENÉTICAS DE SU DIVERSIDAD

MOLECULAR MARKERS: DRIVING STRAWBERRY VARIETY IMPROVEMENT AND UNRAVELING THE GENETIC KEYS TO ITS DIVERSITY

por CRISTINA CASTILLEJO MANGADO

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y FORMACIÓN AGRARIA Y PESQUERA (IFAPA), MÁLAGA

Palabras clave: Fresa, Marcadores Moleculares, Carotenoides.

Keywords: Strawberry, Molecular markers, Carotenoids.

Resumen: En el Laboratorio de Genómica y Biotecnología de Fresa del centro IFAPA Málaga trabajamos en la identificación de marcadores moleculares (variaciones en el ADN) asociados a determinados rasgos en la planta de fresa. Nos interesan especialmente aquellos relacionados con la calidad del fruto y con el rendimiento agronómico. Estos marcadores son la base para desarrollar test genéticos que ayudan a los obtentores de nuevas variedades a seleccionar, de forma temprana y precisa, las características más deseables.

Además de su utilidad práctica, la identificación de estos marcadores moleculares proporciona información clave para comprender la base genética y molecular que subyace a la variabilidad de los caracteres estudiados. Como ejemplo, en este artículo presentamos la identificación de un marcador asociado al contenido de carotenoides en el fruto de la fresa. Estos compuestos, además de su conocido efecto antioxidante, son importantes para la salud porque algunos actúan como precursores de la vitamina A (como el β -caroteno y la α -criptoxantina) y otros, como la luteína y la zeaxantina, contribuyen a proteger la visión al formar parte de los pigmentos de la mácula ocular.

El test que hemos desarrollado representa una herramienta de gran interés para la selección de variedades de fresa más saludables y completas desde el punto de vista nutricional.

Abstract: At the Genomics and Strawberry Biotechnology Laboratory at the IFAPA Málaga center, we work on identifying molecular markers (DNA variations) associated with specific traits in the strawberry plant. We are particularly interested in those related to fruit quality and agronomic performance. These markers form the basis for developing genetic tests that help breeders of new varieties select the most desirable traits early and accurately.

Beyond their practical value, identifying these molecular markers provides key insights into the genetic and molecular foundations underlying the variability of the traits studied. As an example, in this article we present the identification of a marker associated with carotenoid content in strawberry fruit. These compounds, in addition to their well-known antioxidant activity, are important for human health because some act as precursors of vitamin A (such as β -carotene and α -cryptoxanthin) while others, such as lutein and zeaxanthin, help protect vision as components of the macular pigments in the eye.

The test we have developed represents a valuable tool for selecting strawberry varieties that are healthier and more nutritionally complete.

En la provincia de Huelva, España, la fresa (*Fragaria x ananassa*) representa un cultivo de gran relevancia económica, concentrando aproximadamente el 90 % de la producción nacional y abasteciendo casi en exclusiva a la Unión Europea durante los primeros meses del año. La importancia de este cultivo para la región impulsó el desarrollo de numerosos programas de mejora genética orientados a obtener variedades adaptadas a las condiciones locales y capaces de satisfacer las expectativas del consumidor europeo. Estos programas se centran en la selección de rasgos clave, como la precocidad, la productividad, la resistencia a enfermedades y diversos atributos relacionados con la calidad del fruto, tales como el color, el tamaño, el sabor y la firmeza. Conocer cuántos genes influyen en un determinado rasgo, qué efecto tiene cada uno

y dónde se encuentran exactamente en el genoma permite desarrollar test genéticos capaces de predecir si una planta posee ese rasgo de interés. Cuando estos test se incorporan a los programas de mejora —una estrategia conocida como selección asistida por marcadores o MAS (por sus siglas en inglés, *Marker Assisted Selection*)— es posible reducir costes y acelerar el proceso de selección, ya que las decisiones se basan directamente en el genotipo. A diferencia de la evaluación del fenotipo, que requiere esperar a que las plantas crezcan y puede verse afectada por el ambiente, estos test genéticos pueden realizarse en plántulas muy jóvenes y ofrecen resultados más rápidos, fiables y consistentes.

El color de los frutos contribuye a su valor estético y nutricional. Este carácter depende de la concentración

ción y los pigmentos específicos que contengan, mayoritariamente antocianinas y carotenoides. Mientras las antocianinas son responsables del característico color rojo intenso de las fresas maduras, los carotenoides confieren tonalidades que van desde el amarillo hasta el rojo anaranjado. En el caso de las fresas, los carotenoides están presentes en menor medida y han sido menos estudiados que las antocianinas.

En la naturaleza existen fresas que presentan distintos grados de tonalidad amarilla, un rasgo especialmente evidente en aquellas que no producen antocianinas. Para entender qué determina esta variación en el color, se realizó un análisis de QTLs (una técnica que permite relacionar un rasgo observable con regiones concretas del genoma) y así identificar qué zonas del ADN están detrás de la tonalidad amarilla. Para el estudio se utilizó una población de plantas que difería claramente en este carácter, generada a partir del cruce entre un parental de fruto blanco y otro de fruto amarillo. El análisis identificó una región del cromosoma 4B que explicaba el 82 % de la variación en el color blanco/amarillo de la pulpa. Esta región contenía 241 genes predichos, entre los cuales destacaba uno que codifica la enzima CCD4 (*Carotenoid Cleavage Dioxygenase 4*). Las enzimas CCD4 participan en la transformación de carotenoides en apocarotenoides, compuestos normalmente incoloros. Por ello, variaciones en la actividad de esta enzima podrían ser responsables de las diferencias observadas en la coloración del fruto. Al estudiar la expresión del gen *CCD4(4B)* en fresa, observamos que en las últimas fases de maduración del fruto sus niveles aumentaban de forma muy pronunciada, pero únicamente en las fresas de pulpa blanca. Este incremento iba acompañado de una reducción notable en la cantidad de carotenoides: los frutos blancos tenían entre 3 y 4 veces menos que los frutos amarillos. La prueba definitiva de que *CCD4(4B)* era la responsable de estas diferencias en la tonalidad llegó con los experimentos de expresión transitoria. En ellos, se aumentó artificialmente la producción de *CCD4(4B)* en frutos de una variedad que normalmente presenta altos niveles de carotenoides. Como resultado, la cantidad de estos compuestos se redujo en un 51 %, confirmando el papel crucial de esta enzima en la regulación de la acumulación de carotenoides en el fruto.

La secuencia del gen *CCD4(4B)* también muestra diferencias entre las fresas de pulpa blanca y amarilla. Se identificaron numerosos SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido), que permitieron desarrollar un test de HRM (*High Resolution Melting*), un tipo de PCR capaz de distinguir cada variante del gen. Con este test se evaluó una colección diversa de unas 150 accesiones de fresa, incluyendo variedades silvestres

y comerciales del Banco de Germoplasma del IFAPA. El análisis de los niveles de carotenoides en estos frutos confirmó la relación entre los distintos alelos y la concentración de carotenoides, demostrando que el test puede predecir con fiabilidad este rasgo. Esta herramienta resulta muy útil para programas de mejora que busquen aumentar el valor nutricional de las fresas.

Sobre el autor

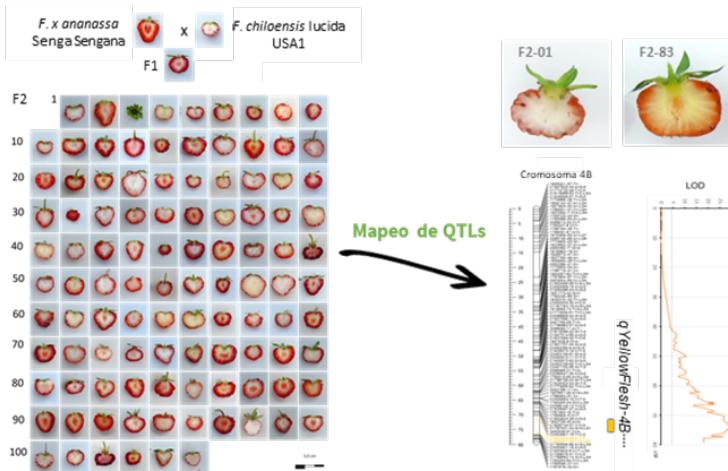


Cristina Castillejo es una investigadora contratada en Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA)-Centro de Málaga. Se doctoró en Biología por la Universidad de Málaga en 2003. Tras pasar por el IBMB-CSIC/CRAG (Centro de Investigación en Agrigenómica) en Barcelona y la Universidad de California San Diego (UCSD) volvió a Málaga, donde se unió en 2017 a su actual grupo de investigación en Genómica y Biotecnología de Fresas en el IFAPA encabezado por los IPs José F. Sánchez-Sevilla e Iraida Amaya Saavedra, actualmente en el Instituto de Hortofruticultura Tropical y Mediterránea (IHSM) "La Mayora".

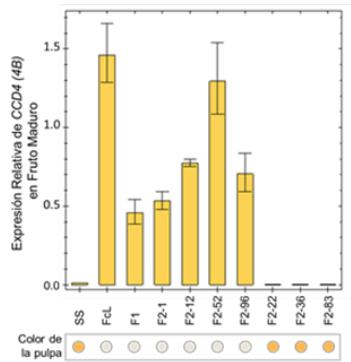
Este trabajo ha sido financiado por los proyectos del Plan Nacional: "Generación de herramientas moleculares para una mejora eficiente de fresas más sabrosas y saludables (StrawMAS)" PID2019-111496RR-I00 / MCIN / AEI /10.13039/501100011033 / FEDER, UE y "Explotación de la variación natural de la fresa para mejorar la calidad del fruto y la eficiencia en el uso del agua (ENVBerry)" PID2022-138290OR-I00 / MCIN / AEI /10.13039/501100011033 / FEDER, UE. IP: Iraida Amaya Saavedra

A.

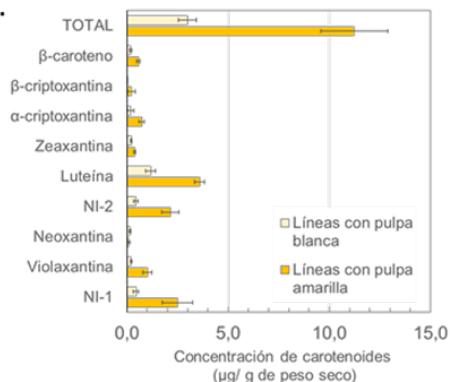
POBLACIÓN DE MAPEO



B.



C.



D.

TEST DE HRM PARA PREDECIR NIVELES DE CAROTENOIDEOS

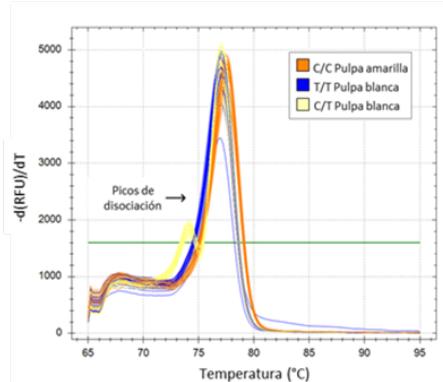


Figura 1. A. Mapeo del QTLs para color de fruto/contenido en carotenoides. En el intervalo del cromosoma 4B definido por el QTL se encuentra el gen *CCD4*. B. Cuantificación por qPCR de la expresión del gen de fresa *CCD4(4B)* en líneas con frutos blancos y amarillos. C. Cuantificación por HPLC de carotenoides en líneas con frutos blancos y amarillos. D. Gráfico obtenido tras realizar el test de HRM en los individuos de la población de mapeo.