



Región de Murcia
Consejería de Agua, Agricultura,
Ganadería, Pesca y Medio Ambiente



Unión Europea

Fondo Europeo
de Desarrollo Regional
"Una manera de hacer Europa"

FEDER 1420-21

Jornada de transferencia, 11 de noviembre de 2021

Mejora vegetal en pimiento: Una herramienta frente a los patógenos del suelo

Fitomejoramiento molecular en pimiento

Celia Martínez Mora

Investigadora

Equipo de Mejora Genética Molecular

celia.martinez@carm.es

Conceptos ligados al fitomejoramiento molecular



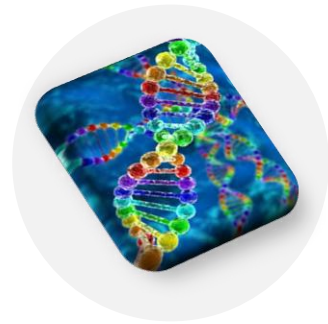
Biodiversidad

Variedad de formas vivas (animales, plantas y microorganismos), los genes que contienen y los ecosistemas que conforman



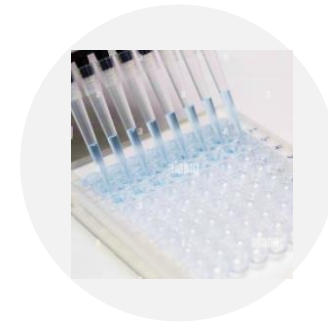
Agrobiodiversidad

Componente de la biodiversidad que contribuye a la producción agrícola y de alimentos



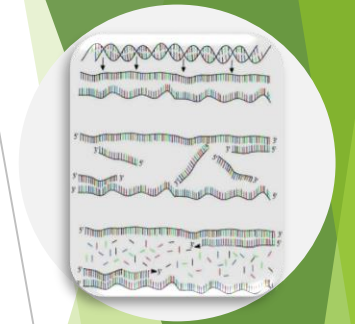
Recursos genéticos

Material vegetal, animal o microbiano portador de unidades funcionales de la herencia (genes)



Biotecnología

Biología molecular
Ingeniería genética



Técnicas

PCR (convencional, múltiplex, RT-PCR, qPCR, in situ)

NGS

CRISPR

Innovar de los genes al campo

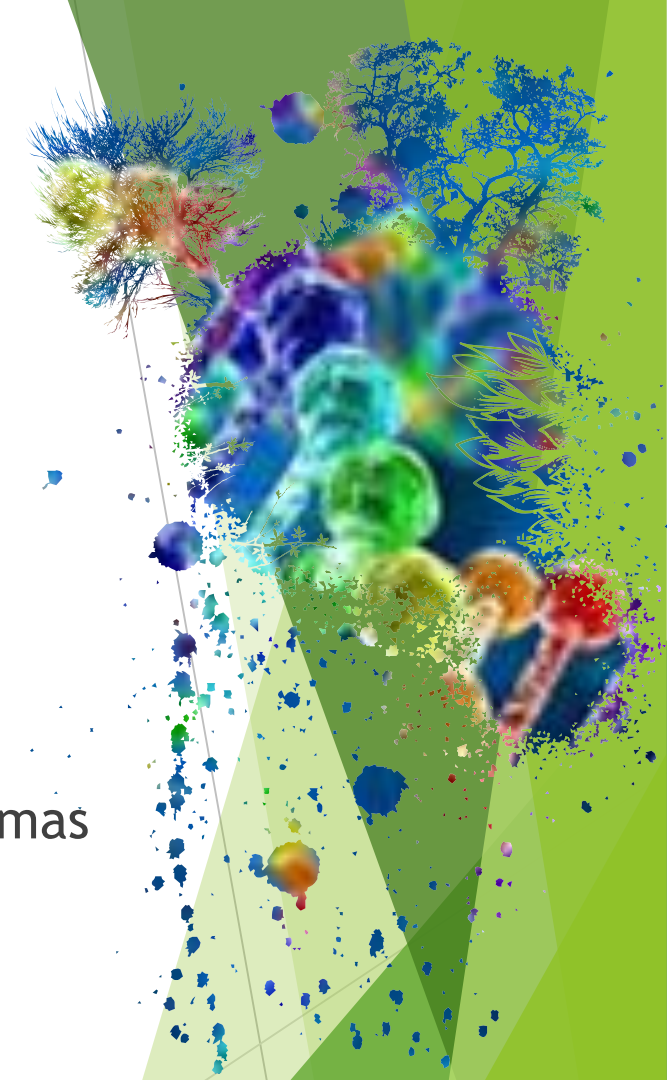
Agricultura y recursos genéticos son interdependientes



Funciones y servicios de los ecosistemas

Producción de alimentos y otros. La **biodiversidad domesticada** es pobre en recursos genéticos; ecosistemas más vulnerables

Biología molecular e ingeniería genética; nuevas herramientas para **conocer, conservar y generar diversidad**



Algunos desafíos; plantas resistentes a patógenos



Medioambientales

Emisión de CO2
Resistencias, presión de selección del patógeno, fitotoxicidades
Normativa medioambiental
Cambio climático



Erosión genética

Pérdida de genes de interés, algunos aún desconocidos



Económicos

↓ costes de producción
Innovaciones/mejoras en alimentos
Riesgos de mercado: precios y demandas



Degradación de suelos

Organismos beneficiosos
Acumulación
Conservación de suelos

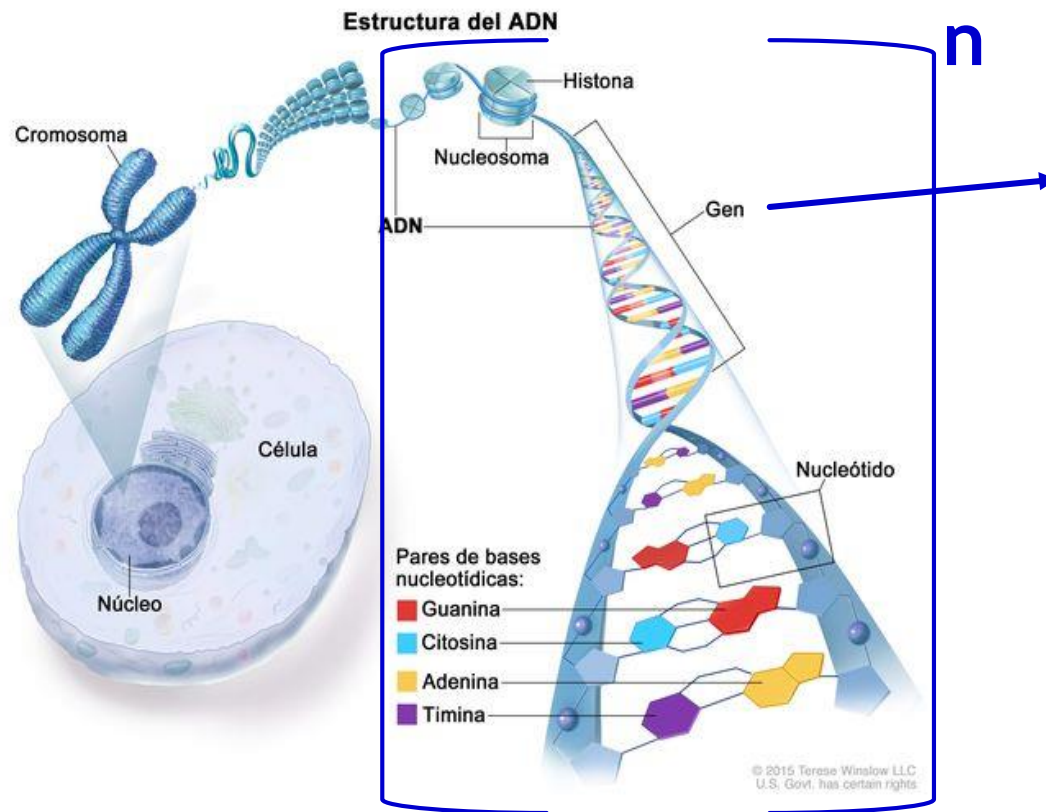


Salud humana

Agricultores y consumidores

La PCR en la I+D+i agraria

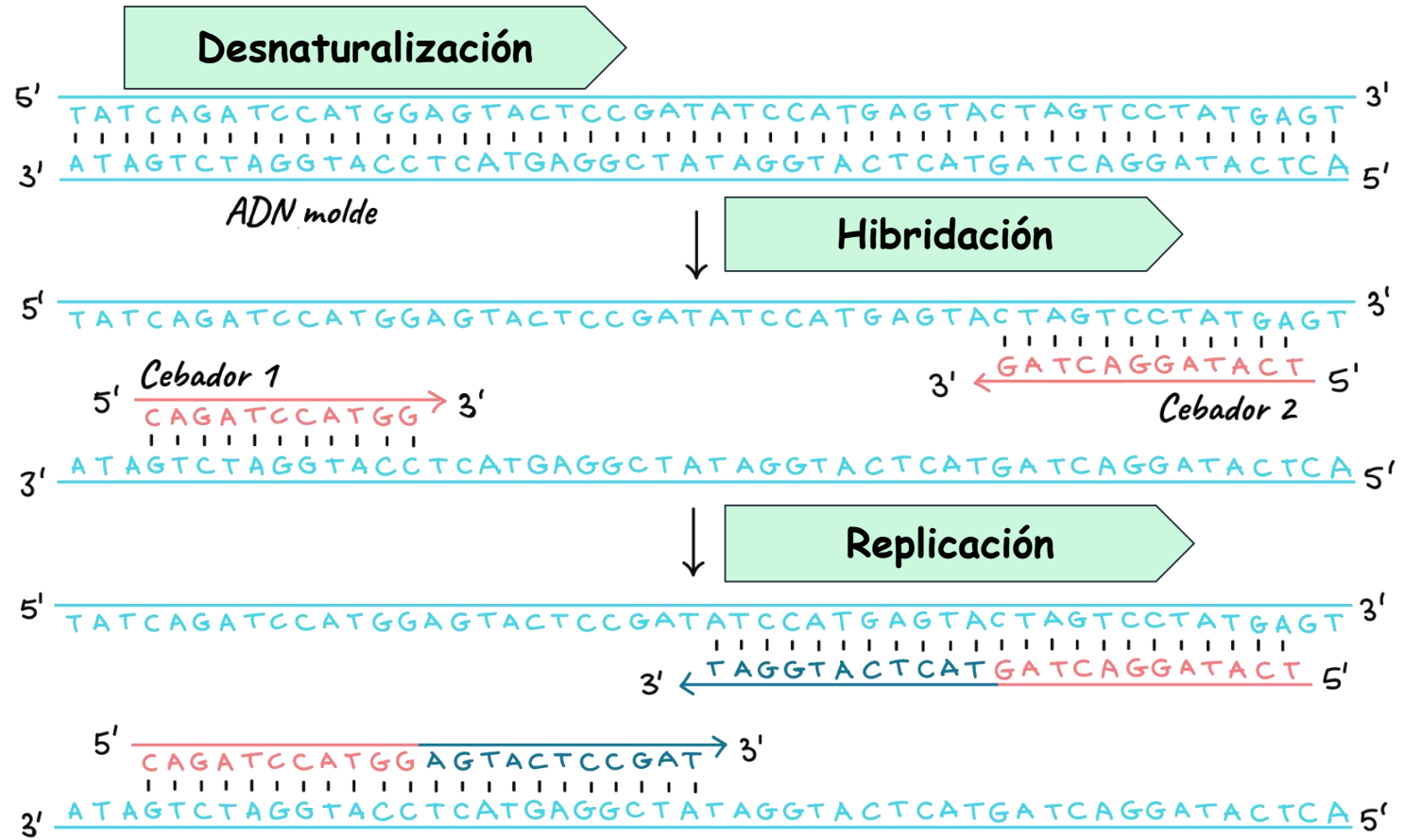
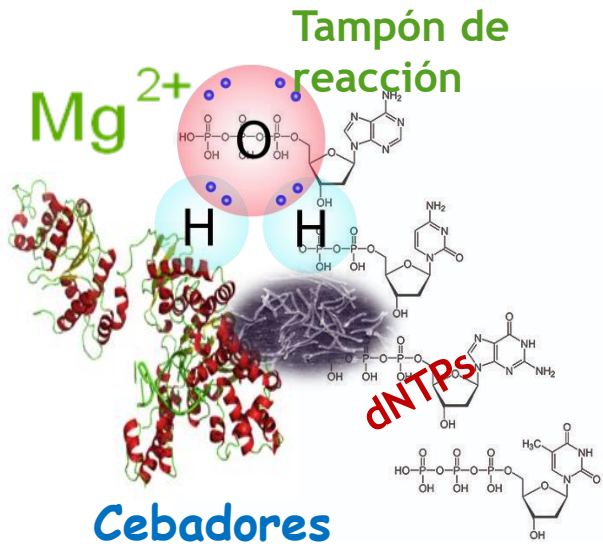
La **reacción en cadena de la polimerasa** (Polymerase Chain Reaction), es una técnica de biología molecular que proporciona un gran número de copias de un fragmento de ADN.



El ADN diana porta la información genética de un **carácter de interés**, así como puede ser empleado en la identificación y análisis poblacionales de seres vivos.

Un **marcador molecular** es un fragmento de ADN de ubicación determinada en el genoma que revela sitios de secuencia particular de ADN. Pueden ser cercanos a un gen aún no identificado, incluso ser parte del mismo.

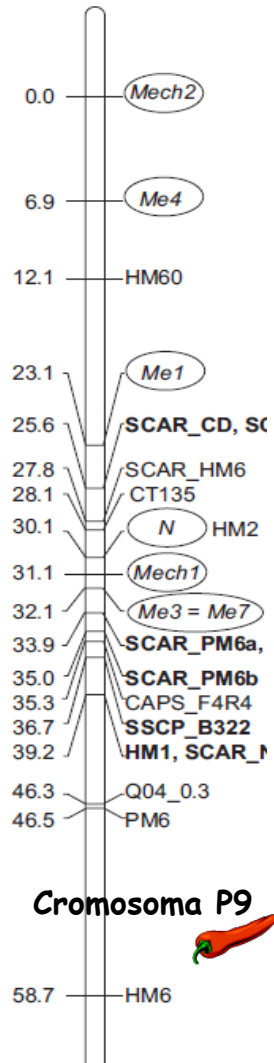
La PCR en la I+D+i agraria



gmp/p54/edit					
1	2	3	4	5	6
94.0°	94.0°				
02:00	00:30	54.0°	72.0°	72.0°	END
		00:30	00:45	15:00	
← x35 →					
<< Export Print Save Exit					

Programa específico/cebador

Programa de mejora de pimiento: genética de la resistencia a *Meloidogyne incognita*



Conocimiento genético de la resistencia de la especie en estudio

- Cuatro genes mayores y dominantes

Gen	Origen
<i>Me1</i>	Centro América (PI 201234)
<i>Me3</i>	India (PI 322719)
<i>Me7</i>	México SCM
<i>N</i>	Estados Unidos "Carolina Hot"

Plantas resistentes:
inhiben la reproducción
del nematodo respecto a
la alcanzada en una planta
susceptible

- El gen *Me1* protege más que los genes *Me 3* y *Me7*
- ✓ Búsqueda y puesta a punto de marcadores moleculares asociados a dichos genes (PCR) para el material vegetal en estudio



Programa de mejora de pimiento: genética de la resistencia a *Meloidogyne incognita*

Marcador	Genes	T ^a anill.	Referencia
SCAR_B94	Me3	53°C	Djian-Caporalino et al, 2007
SCAR_CD	Me1 y Me7	53°C	
CAPS_F4R4	Me7	61°C	
SSCP_PM5	Me1 y N	54°C	Farazi et al, 2012
SCAR_PM6a	Me3, Me7 y N	49°C	
SCAR_PM6b	Me3, Me7 y N	61°C	
SCAR_N	Me3, Me7	54°C	
SCAR_PM54	Me1 y Me7	54°C	
SCAR_HM60	Me1	54°C	
C2At2g06530_CAPS	Me1	55°C	Tevfik et al, 2015
16880-1-V2_SCAR	Me1	57°C	Wang et al, 2018
16830-CAPS	Me1	60°C	

CAPS: Cleaved amplified polymorphic sequence (escindida; restricción)
 SCAR: Sequence Characterized Amplified Region (amplicones RAPD)
 SSCP: Single-Strand Conformation Polymorphism (conformación cadena simple)

Selección Asistida por Marcadores Moleculares

VARIEDAD CONTROL	Gen resistencia (bibliografía)
Carolina Cayenne	N, heterocigótico
Carolina Wonder	
Charleston Belle	
Alcos	Resistencia desconocida
DLL	Sensible
HDA-330	Me1, homocigótico
HDA-149	Me3, homocigótico
Serrano Criollo Morelos 334	Me7, homocigótico
Americano	Sensible
YW	Sensible (gen Me5)
Lamuyo	Sensible

Programa de mejora de pimiento: genética de la resistencia a *Meloidogyne incognita*

Selección Asistida por Marcadores Moleculares

Banco de germoplasma del IMIDA: variedades adaptadas a las condiciones edafoclimáticas, tradicionales, de calidad, reservorios genéticos, etc.



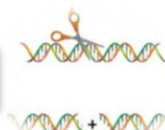
ADN



PCR



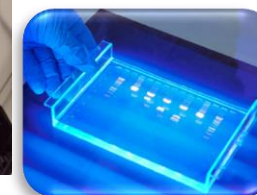
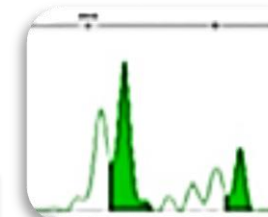
Restricción



Electroforesis (agarosa alta resolución/acrilamida)



Revelado,
interpretación

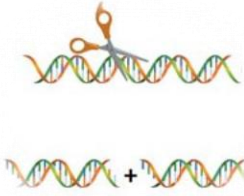
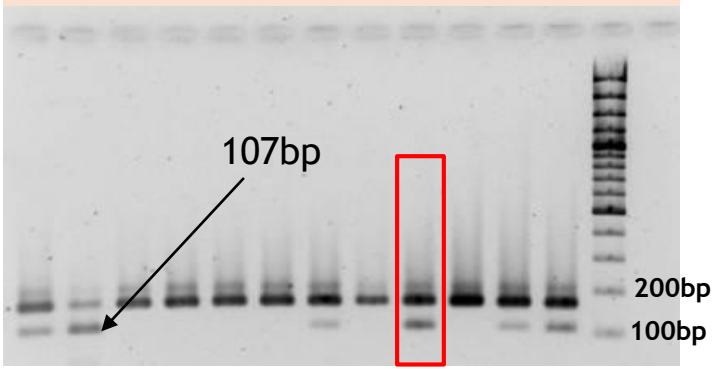


ATTAGGTGCTCCAGATATAGCTT
TTACTACTTTTGTCTTCAGCTCT

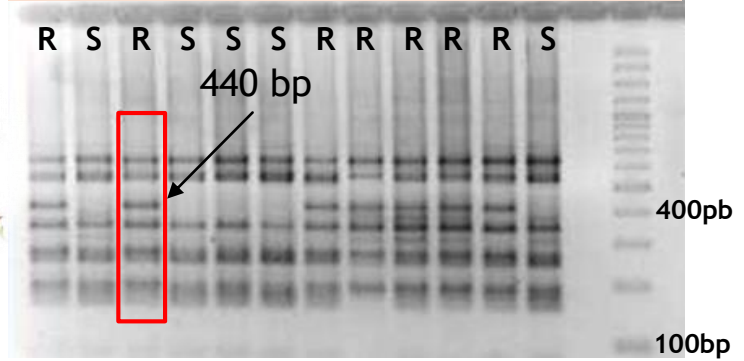
Programa de mejora de pimiento: genética de la resistencia a *Meloidogyne incognita*



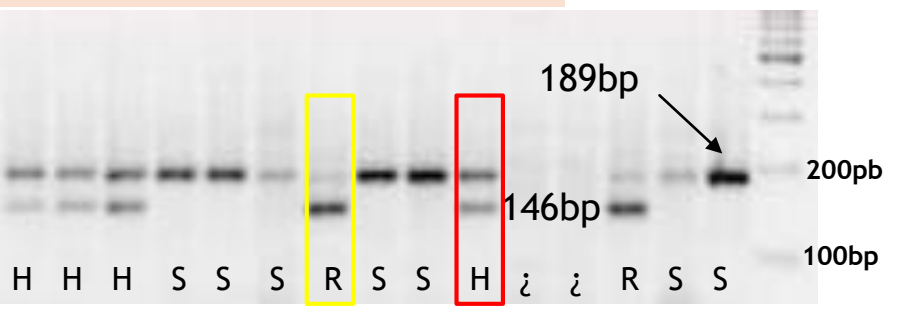
SCAR_CD: Me1, Me7 dominante



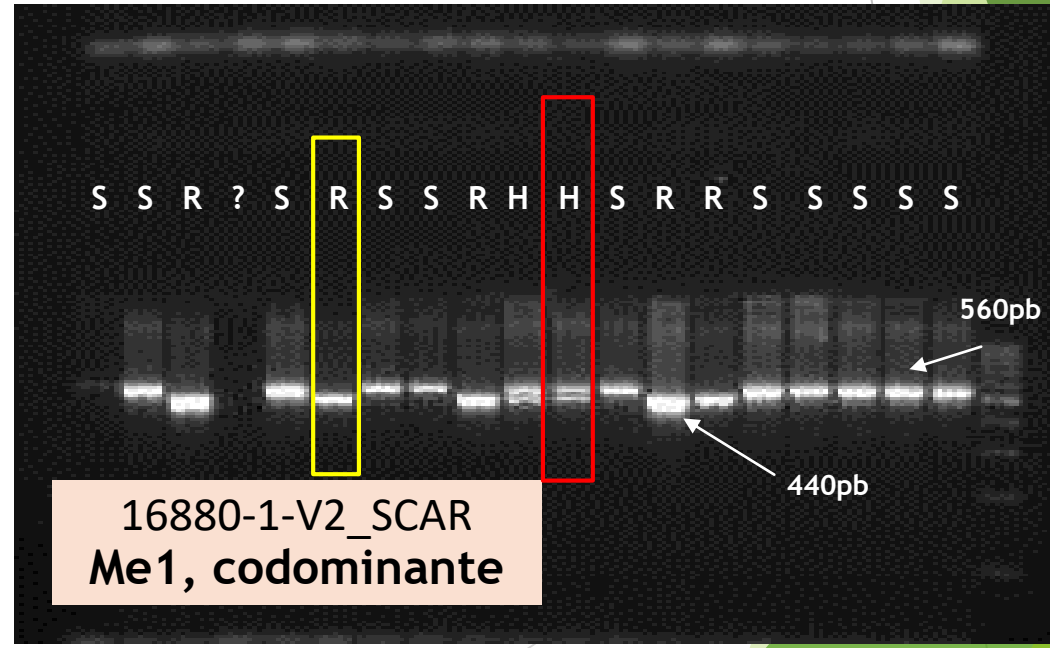
CAPS_F4R4: Me7, codominante



PM6a: Me7, codominante



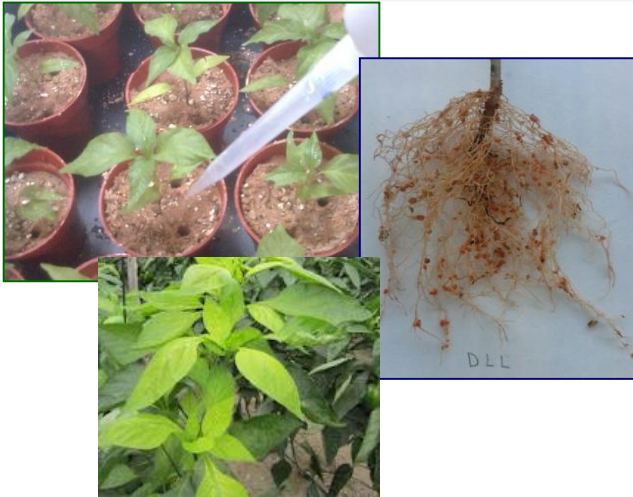
SCAR_PM54: Me1, Me7, dominante



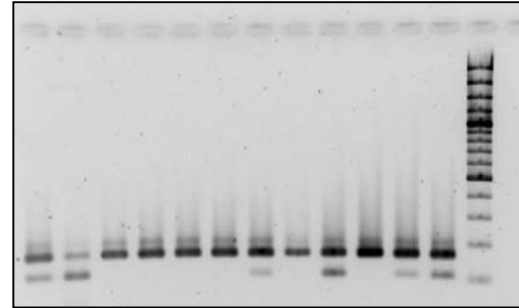
**16880-1-V2_SCAR
Me1, codominante**

Programa de mejora de pimiento: genética de la resistencia a *Meloidogyne incognita*

FENOTIPO DE LA RESISTENCIA



GENOTIPO DE LA RESISTENCIA



Número suficiente de marcadores moleculares informativos ligados a los genes de resistencia Me1, Me3, Me7



- Variedades de fenotipo resistente que no revelan ser portadoras de ninguno de estos cuatro genes
- Marcadores no informativos, genoma amplio y marcado por condiciones locales

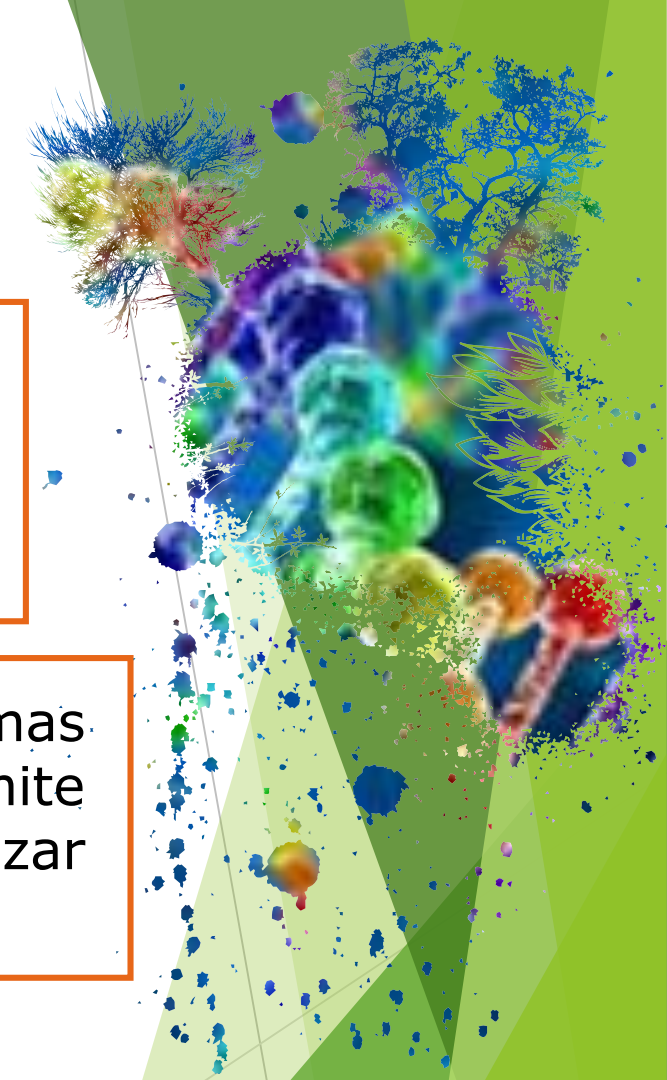


Nuevas rutas

Expresión de genes, qPCR en Tiempo Real (qRT-PCR) transcritos de ARN por transcripción inversa en cDNA seguido de qPCR, que cuantifica la cantidad de producto tras cada ciclo de amplificación. En un paso: detección y amplificación.

Genotipado por secuenciación (GBS), dentro de las plataformas de Secuenciación de Nueva Generación (NGS), que permite comparar individuos de la misma especie, así como realizar estudios de diversidad.

Conocimiento dinámico, colaboraciones y sinergias, tanto internas como externas



Otras aplicaciones de la genética molecular

Filogenia;
diversidad
genética

Detección molecular de resistencias a estreses bióticos (fitopatógenos) y abióticos (salinidad, sequía)

Fenotipo

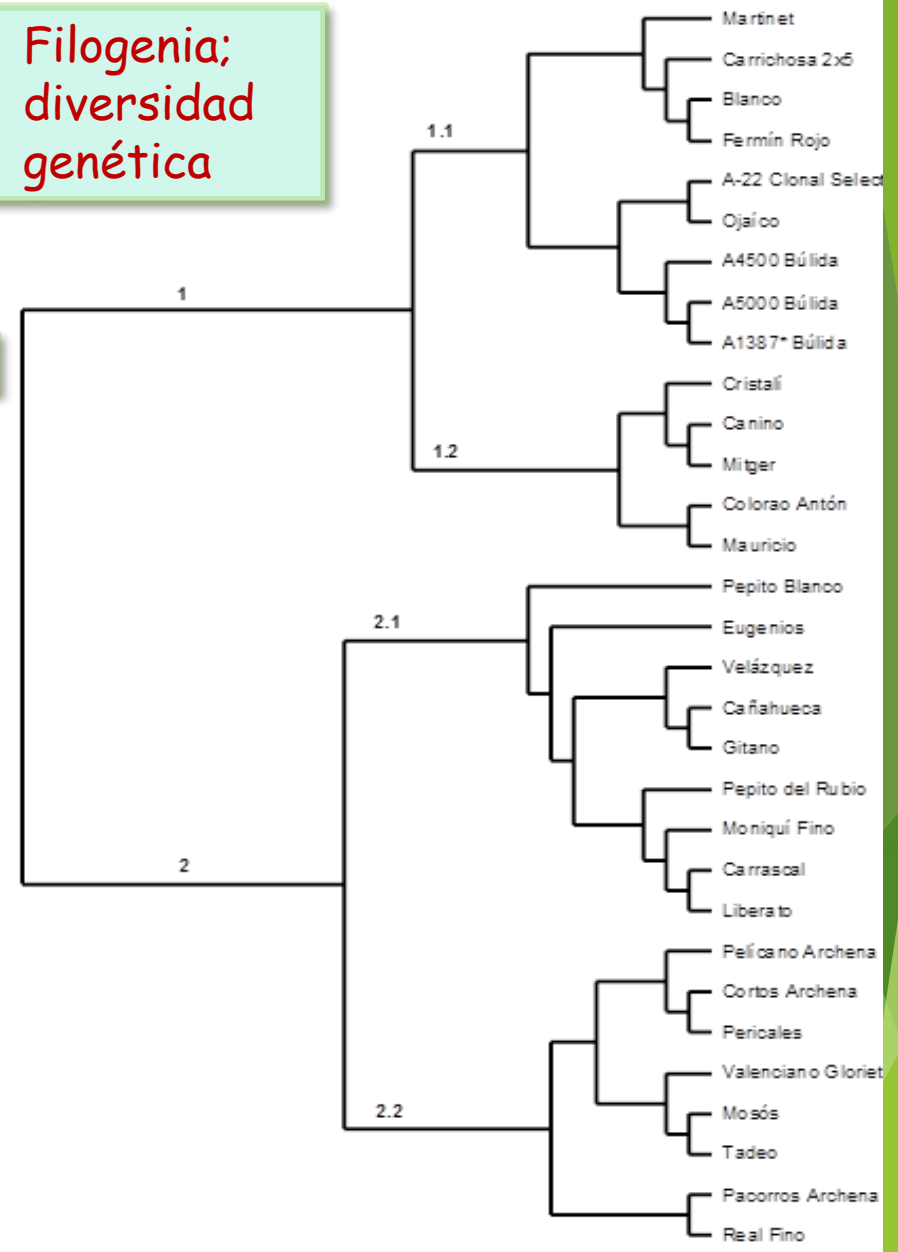
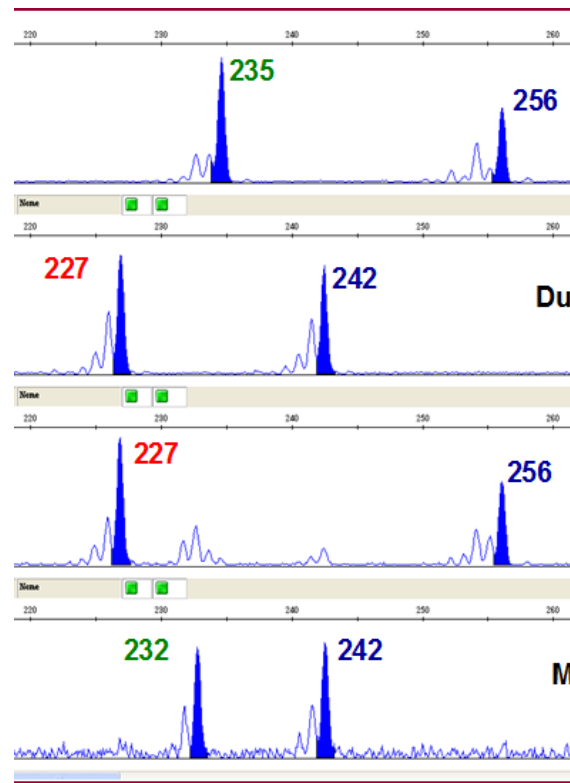
Genotipo

Laboratorio

Cámaras

Campo

Estudios de parentesco



Otras aplicaciones de la genética molecular

Huella genética, GENOTIPADO

Variedad	Marcador																									
	GMS-1	GMS-2	GMS-3	GMS-4	CMS-5	UDP-5	UDP-10	UDP-402	UDP-406	BT-04	BT-08	BT-30	BT-33													
Blanco	160	166	157	157	195	195	176	176	214	246	106	150	83	83	146	146	105	105	190	200	92	114	148	148	150	158
A-22 Selección clonal	144	166	157	157	195	195	150	176	246	266	106	120	101	103	146	146	87	105	200	206	92	114	148	152	150	158
Canino	160	166	157	157	197	197	150	176	214	246	106	120	83	99	146	146	105	105	190	200	92	110	148	148	150	158
Cañahueca	160	166	157	171	195	195	150	176	244	246	114	120	101	103	146	146	87	91	194	200	92	114	148	152	150	158
Carrascal	160	166	157	157	195	195	150	176	246	266	120	126	99	103	146	146	87	91	194	200	92	114	148	148	150	158
Carrichosa 2x5	144	166	157	171	195	195	150	176	246	246	106	120	83	83	146	146	91	105	190	200	92	114	148	148	142	150
Colorao Antón	138	160	157	157	197	197	150	176	244	246	120	126	101	103	146	146	87	87	190	200	92	114	148	148	150	158
Cortos Archena	160	166	145	157	197	197	150	150	244	246	106	120	99	103	146	146	87	91	194	200	92	114	148	148	150	158
Cristali	160	166	149	157	197	197	150	176	246	256	106	120	99	103	146	146	91	105	190	200	92	110	148	148	150	158
Eugenios	160	166	157	157	195	195	176	176	244	266	114	120	101	103	146	146	87	91	194	200	92	114	148	148	150	158
Fermin Rojo	166	166	157	171	195	195	150	176	214	246	106	120	83	99	146	146	105	105	194	200	92	114	148	148	150	158
Gitano	160	166	157	157	195	195	176	176	244	246	114	120	101	103	146	146	87	91	194	200	92	114	148	152	150	158
Liberato	160	166	157	157	195	195	176	176	246	256	120	126	99	103	146	146	87	91	194	200	92	114	148	148	150	158
Martinet	138	160	157	157	195	195	150	150	214	246	106	120	83	99	146	146	91	101	190	200	92	114	148	148	150	158
Mauricio	160	166	157	157	197	197	176	176	244	246	120	138	83	103	146	146	87	91	200	206	92	110	148	148	150	158
Mitjer	144	166	157	157	197	197	150	176	244	246	106	120	83	99	146	146	105	105	190	200	92	110	148	148	150	158
Moniquí Fino	160	166	157	171	195	195	150	176	246	266	120	126	99	103	146	146	91	105	194	200	92	114	148	148	150	158
Mosós	144	166	157	171	197	197	150	176	246	266	106	120	83	99	146	146	91	105	194	200	92	114	148	148	150	158
Ojaico	144	166	157	157	195	195	150	176	244	246	106	120	101	103	146	146	87	101	200	206	92	114	148	152	150	158
Pacorros Archena	144	166	145	157	195	195	150	176	244	246	106	120	99	103	130	146	91	101	194	206	92	114	148	148	150	158
Pelicano Archena	144	166	145	157	197	197	150	176	244	246	106	120	99	103	130	146	91	105	194	200	92	114	148	148	150	158
Pepito Blancos	160	166	157	157	171	181	176	176	244	246	120	126	99	103	146	146	87	91	194	200	92	114	148	148	150	158
Pepito del Rubio	160	166	157	157	195	195	176	176	214	246	120	126	99	101	146	146	87	91	194	200	92	114	148	148	150	158
Pericales	160	160	145	157	195	195	150	150	244	246	106	120	99	103	146	146	87	91	194	200	92	110	148	148	150	158
Real Fino	144	166	145	157	197	197	150	176	246	256	106	120	99	103	130	146	91	101	194	206	92	110	148	148	150	158
Tadeo	144	166	157	171	197	197	150	176	246	266	120	126	83	99	146	146	87	91	194	200	92	114	148	152	150	158
Valenc. Glorieta	144	166	157	171	197	197	150	176	244	246	106	126	83	99	146	146	91	105	190	200	92	114	148	148	150	158
Velázquez	160	166	157	157	195	195	176	176	244	246	120	126	83	83	146	146	87	91	194	200	92	114	148	148	150	158
A5000 Búvida	160	166	157	171	195	195	176	176	246	266	120	126	83	103	146	146	105	105	200	206	92	114	148	148	150	158
A1387 Búvida	166	166	157	171	195	195	176	176	246	266	120	126	83	103	146	146	105	105	200	206	92	114	148	148	150	158
A4500 Búvida	166	166	157	171	195	195	176	176	246	266	114	120	83	103	146	146	105	105	200	206	92	114	148	148	150	158

Identificación varietal



Caracterización molecular de colecciones de germoplasma



Algunos retos de la mejora genética molecular aplicada

- ▶ **Generar agrobiodiversidad (no OMG)** desde un material vegetal identificado genéticamente como portador de caracteres de interés.
- ▶ **ADN ambiental;** biodiversidad filogenética de un ecosistema (agroecosistema).
- ▶ **Aplicación de técnicas biotecnológicas:**
 - ▶ basadas en la PCR; estudios de resistencia a **fitopatógenos, estreses abióticos y caracteres de calidad** (PCR Múltiplex, RT-PCR, qPCR, PCRdigital). Expresión de genes.
 - ▶ **Secuenciación de nueva generación:** genotipado y filogenia

Agradecimientos

Equipos de
Protección de Cultivos
Mejora de Cultivos Hortícolas
Mejora Genética Molecular
Colaboradores

FEDER 1420-21



Unión Europea

Fondo Europeo
de Desarrollo Regional
"Una manera de hacer Europa"

Gracias por
su atención


Instituto Murciano de Investigación
y Desarrollo Agrario y Medioambiental

Celia Martínez Mora
celia.martinez@carm.es