

Benavides-Acevedo Miguel (1), Barboza-Barquero Luis (1), Mora-Newcomer Eric (2), Bogantes-Arias Antonio (3).

1 Centro para Investigaciones en Granos y Semillas. miguel.benavides@ucr.ac.cr 2 Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno. 3 Instituto Nacional de Transferencia Agropecuaria

INTRODUCCIÓN

Carica papaya L. es una planta frutal de gran importancia económica como cultivo. Es considerada una planta tropical modelo para el estudio de la determinación sexual, debido a que puede tener tres sexos: hembras, hermafroditas y machos. Las plantas de papaya hermafroditas pueden presentar diferentes grados de fusión entre sus estambres y el ovario, conocido como carpelodia. Cuando cinco estambres antepétalos se encuentran completamente transformados en carpelos, las flores y frutos algunas veces se asemejan a flores y frutos femeninos (1), pero normalmente los diferentes grados de carpelodia producen morfologías aberrantes (2,3), produciéndose flores de tipo pentandria en una frecuencia muy baja (2).

La regresión sexual puede permitir entender mejor el origen sexual evolutivo de la bisexualidad en flores angiospermas (2,4). No existe un consenso aceptado sobre el origen evolutivo de la bisexualidad. Hay algunos autores que teorizan que las flores unisexuales de papaya son derivadas de un ancestro bisexual basados en el desarrollo microscópico de las estructuras florales (5), pero hay otros autores que argumentan en contra de esta teoría (3).

Recientemente se identificó una nueva mutación en una planta hermafrodita de papaya que produce una mezcla de flores hermafroditas, femeninas e intermedias (datos sin publicar). Esta mutación se hereda a la progenie de la planta mutante original, y produce una amplia gama de fenotipos intermedios. En las poblaciones que segregan esta mutación su fenotipo cambia de producir flores hermafroditas a producir flores de aspecto femenino.

Los paquetes R/qtl, LinkageMapView y Rtools permiten el análisis de bases de datos genómicas para el desarrollo de mapas de ligamiento genético y mapeo de genes empleando RStudio a partir de bases de datos de QTLs (*quantitative trait locus*). El objetivo de esta investigación es generar el mapa de ligamiento y mapeo de genes de una mutación sexual en papaya. Los resultados, además de caracterizar esta nueva mutación, pueden ayudar a esclarecer el panorama de la evolución de la bisexualidad en la papaya y en los angiospermas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 12 plantas mutadas y 12 plantas no mutadas de una F2. Para la extracción del ADN se recolectaron discos de tejido en tubos Eppendorf de 2 mL y se liofilizaron, a estos se les agregó un balín de acero inoxidable y se maceraron en un molino Retsch a 25 Hz por un minuto. La extracción de ADN se realizó con el kit de extracción de Qiagen Plant DNA mini kit (Hilden, Alemania) según las instrucciones del fabricante.

Posterior las muestras se enviaron a secuenciar a Data2Bio (Ames, Iowa) por medio de tGBS. Los datos de los marcadores moleculares obtenidos se mapearon con el paquete R/qtl (versión 1.46-2) de mapeo por intervalo (6). El valor LOD (del inglés *Logarithm of the Odds*, que es una razón de verosimilitud logarítmica) mínimo de significancia se calculó de acuerdo con el protocolo de determinación del umbral de significancia (6). Posteriormente se identificaron los marcadores moleculares cuyo valor LOD superaba el valor LOD mínimo de significancia y su grupo de ligamiento.

Los grupos de ligamiento identificados, que contenían marcadores moleculares cuyo valor LOD superaba el valor LOD mínimo de significancia, se ubicaron en el genoma de papaya y se depuraron (7). Una vez depurados los marcadores moleculares fueron mapeados y caracterizados con los paquetes LinkageMapView (versión 2.1.2), devtools (versión 2.3.0) y con qtlTools (versión 1.2.0).

Resultados

La base de datos obtenidas (8) generó marcadores moleculares a lo largo del genoma de *C. papaya*. El mapeo de QTLs generó un mapa de ligamiento de 120 cM (Fig.1 A) y un valor LOD límite, obtenido por un análisis de 1500 permutaciones, de 2.5, con un $p = 0.05$. Se encontraron en total 9 marcadores moleculares que se correlacionaron con el fenotipo mutado de forma significativa. Los marcadores que tuvieron valores LOD significativos (M1161, M1482, P142) permitieron diferenciar los genotipos B, H y A (Fig. 1 B-D). El marcador M11 (Fig. 1 E), tuvo un LOD por debajo del límite de significancia, el cual no diferencia con la misma resolución los genotipos B, H y A que con los marcadores significativos.

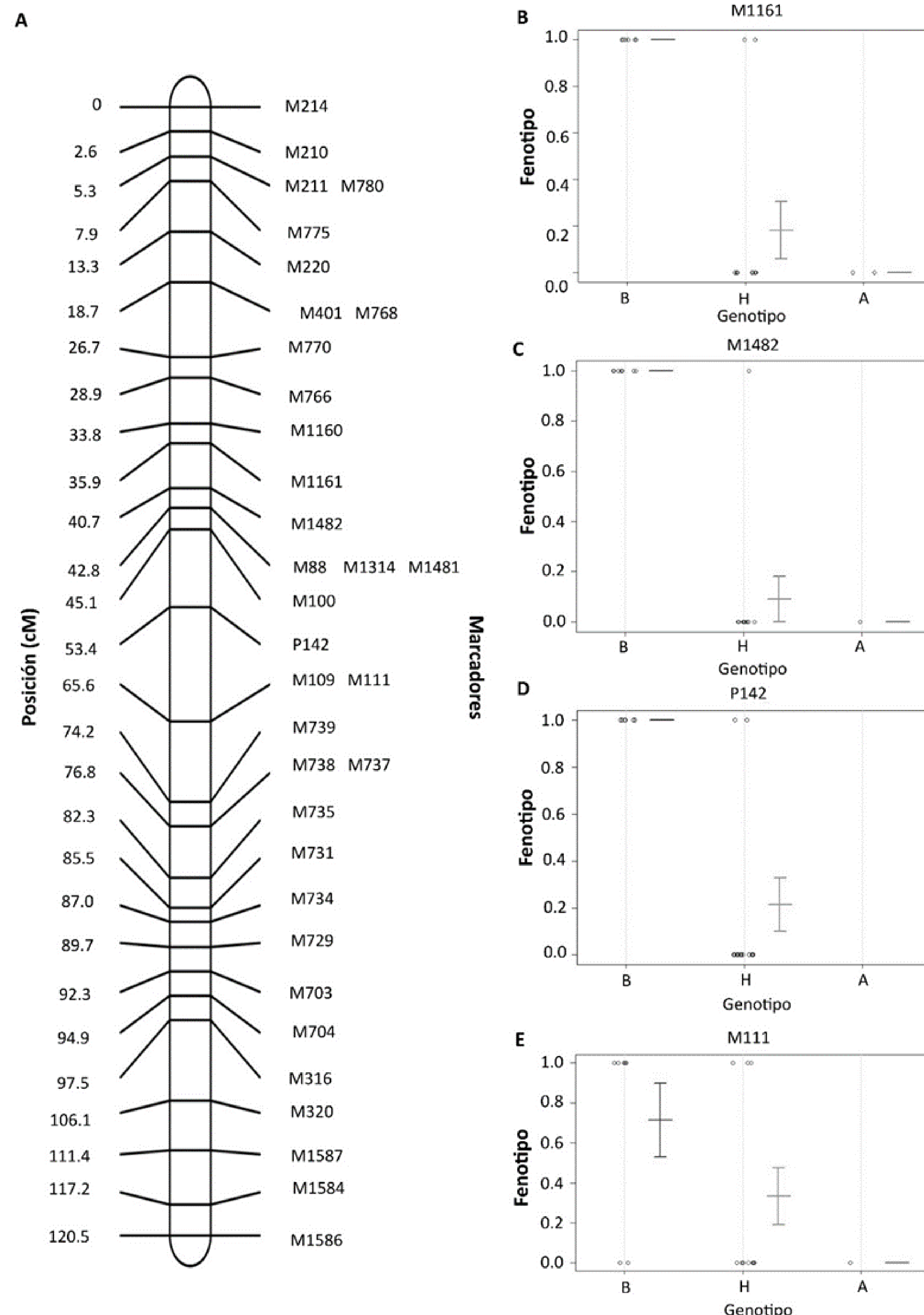


Fig. 1. Representación de la distribución de marcadores moleculares a lo largo del mapa de ligamiento obtenido de *Carica papaya* y de la expresión diferencial de los genotipos silvestre homocigota (B), mutante heterocigota (H) y mutante homocigota (A). A. Esquema general de los marcadores moleculares. Plot diferencial de los marcadores M161 (B), M1482 (C), P142 (D), M111 (E).

DISCUSIÓN

El marcador M1482 fue el marcador principal que clasifica a casi todos los individuos mutantes heterocigotas con el mismo valor de unidades relativas de fenotipo que los homocigotas mutantes (Figura 1 C). El locus del gen mutado probablemente se encuentra entre los 35.85 cM y los 42.81 cM.

Así como otros autores (9,10) encontraron QTLs que se correlacionaban con diferentes características del fruto de la papaya como dulzura, tamaño y peso que sirvieran como base en el mejoramiento genético dirigido de estas características para variedades específicas de papaya. Los marcadores moleculares encontrados en esta investigación permiten sentar las bases para estudios posteriores que permitan poder diferenciar individuos que presenten la mutación de los que no y para encontrar el o los genes candidatos causantes del fenotipo mutado y quizá que causen la carpelodia en la papaya.

REFERENCIAS

- Jiménez V, Mora-Newcomer E, Gutiérrez-Soto M. Biology of the papaya plant. In: Genetics and Genomics of Papaya. 2014. p. 1–438.
- Ronse De Craene L, Thrin C, Morel P, Negrutiu I. Carpeloidy in flower evolution and diversification: A comparative study in *Carica papaya* and *Arabidopsis thaliana*. *Ann Bot*. 2011;107(9):1453–63.
- Ronse, L.P.; Smets EF. The floral development and anatomy of *Carica papaya* (Caricaceae). *Can J Bot*. 1999;77(1967):582–98.
- Frohlich MW, Parker DS. The Mostly Male Theory of Flower Evolutionary Origins: From Genes to Fossils. *Syst Bot* [Internet]. 2000;25(2):155. Available from: <http://www.jstor.org/stable/2666635?origin=crossref>
- Storey WB. Pistillate papaya flower: A morphological anomaly. *Sci New Ser*. 1969;163(3865):401–5.
- Broman K, Sen S. A guide to QTL mapping with R/qtl. 1st ed. New York: Springer; 2009. 1–401 p.
- Broman K. Genetic map construction with R / qtl [Internet]. University of Wisconsin-Madison Department of Biostatistics & Medical Informatics Technical Report # 214; 2012. p. 1–41. Available from: <http://www.rqtl.org>
- Ott A, Liu S, Schnable JC, Yeh CT, Wang KS, Schnable PS. tGBS®genotyping-by-sequencing enables reliable genotyping of heterozygous loci. *Nucleic Acids Res*. 2017;45(21).
- Blas AL, Yu Q, Veatch OJ, Paull RE, Moore PH, Ming R. Genetic mapping of quantitative trait loci controlling fruit size and shape in papaya. *Mol Breed*. 2012;29(2):457–66.
- Nantawan U, Kanchana-Udomkan C, Bar I, Ford R. Linkage mapping and quantitative trait loci analysis of sweetness and other fruit quality traits in papaya. *BMC Plant Biol*. 2019;19(1):1–11.

Agradecimientos

Esta investigación formó parte del proyecto 734-B6-269 “Mapeo de loci que controlan caracteres cuantitativos en *Carica papaya*” inscrito a la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica. Además, se financió con el Fondo de Apoyo a Proyectos Finales de Graduación de Posgrado brindado por la Vicerrectoría de Investigación y el Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad de Costa Rica y por el Fondo de Becas CeNAT – CONARE a quienes se les agradece por abrirle oportunidades a estudiantes de financiar sus proyectos de investigación. Un agradecimiento muy cordial al Ph.D. Karl Broman que ayudó en la resolución de dudas y problemas a la hora de desarrollar el código de análisis de QTLs en R.

***Los resultados se encuentran en desarrollo y no pueden ser utilizados sin permiso de los autores.