



Sociedad
Española
de **Ciencias**
Hortícolas

97

Septiembre
2024

ACTA DE HORTICULTURA

Comunicaciones Técnicas
Sociedad Española de
Ciencias Hortícolas

XI Congreso Nacional de
Mejora Genética de Plantas

Editores:
Margarita López Corrales
M^a Engracia Guerra Velo
María Ramos García
Antonio Jesús Galán Jiménez

Cáceres, 24-26 de septiembre de 2024

Análisis genético de compuestos fenólicos en cerezo

C. Gracia^{1,2}, A. Calle³, M.J. Serradilla⁴, K. Gasic⁵, A. Wünsch^{1, 2*}

¹Departamento de Ciencia Vegetal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Avenida de Montañana 930, 50059 Zaragoza.

²Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50013 Zaragoza.

³Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Fruitcentre, PCiTAL, Gardeny Park, 25003 Lleida.

⁴Área de Postcosecha, Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura (INTAEX), Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), Avd. Adolfo Suárez s/n, 06007 Badajoz.

⁵Department of Plant and Environmental Sciences, Clemson University, Clemson, SC (EEUU).

*Autor para correspondencia: awunsch@aragon.es

Palabras clave: Mejora genética, *Prunus avium*, QTLs, Compuestos fenólicos

Resumen

Las cerezas son una excelente fuente de compuestos fenólicos que son beneficiosos para la salud. La incorporación de estos compuestos bioactivos a la dieta se asocia con una reducción del riesgo de enfermedades degenerativas y cardiovasculares y, además, con una mejora de las actividades antiinflamatorias y anticancerígenas. Por otro lado, estos compuestos desempeñan un papel esencial tanto en la calidad de las cerezas, contribuyendo al color y sabor, como en la vida útil de estos frutos, ya que han sido relacionados con el retraso de la senescencia. En este trabajo se investigó la genética del contenido en compuestos fenólicos mediante su análisis en varias familias de cerezo. Los principales compuestos fenólicos (ácidos hidroxicinámicos, antocianinas, flavonoles y flavan-3-oles) fueron analizados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando un detector de matriz de diodo UV-Vis (DAD) para las tres primeras familias de compuestos y un detector de espectrofotómetro de barrido rápido de fluorescencia (FLD) para los flavan-3-oles. El estudio se llevó a cabo en 5 familias de cerezo durante 2 años (N=166/261) y, posteriormente, se realizó el mapeo de QTLs en todas las familias simultáneamente (FlexQTL™). Las concentraciones de los compuestos fenólicos identificados fueron utilizadas para estudiar la segregación y heredabilidad de estos y el análisis de QTLs permitió identificar regiones mayores implicadas en la regulación de estos compuestos. Estos resultados suponen un avance para el conocimiento de la regulación de estos compuestos fenólicos y para la mejora genética de este cultivo.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que producen las plantas frente a estreses abióticos y bióticos, que se caracterizan por tener un anillo aromático unido a un grupo hidroxilo, lo que les permite entregar un electrón a las especies reactivas del oxígeno (ROS) confiriéndole propiedades antioxidantes (Serradilla et al., 2017). Además, tiene también propiedades antiinflamatorias y antitumorales (Fonseca et al., 2021). El consumo de frutas y verduras, ricas en estos compuestos, se ha asociado con efectos beneficiosos para la salud, contribuyendo a la prevención de enfermedades cardiovasculares y enfermedades asociadas al estrés oxidativo (Chezanoglou et al., 2024; McCune et al., 2010). Por otro lado, contribuyen a la calidad organoléptica del fruto, influyendo en el sabor, color, textura y aroma, así como en la vida útil (Calle et al., 2023).

Las cerezas son una excelente fuente de estos compuestos bioactivos, el contenido total en polifenoles varía entre 44,3-192 mg/100g de peso fresco (PF), esta variabilidad en su composición y concentración se deben tanto a factores genéticos como medioambientales (Calle et al., 2023; Antognoni et al., 2020).

Los polifenoles presentes en la cereza se pueden agrupar según su estructura y ruta biosintética: los ácidos fenólicos (ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos) son derivados del ácido cinámico y ácido benzoico, mientras que los derivados del fenilpropanoide son los flavonoides (antocianinas, flavonoles y flavan-3-oles) (Calle et al., 2023; Serradilla et al., 2017). Entre los principales compuestos fenólicos destacan las antocianinas, pigmentos solubles presentes en las vacuolas, responsables de color rojo (Serradilla et al., 2017; Chockchaisawasdee et al., 2016) y que intervienen en la protección contra los daños de la luz UV y protegen del ataque de patógenos (Calle et al., 2023). También destaca por su contenido en ácidos hidroxicinámicos, concretamente el ácido neoclorogénico, aunque su concentración depende ampliamente del cultivar (Serradilla et al., 2017) y en flavonoles, principalmente la quercetina 3-*O*-rutinósido cuya concentración aumenta durante la maduración (Serradilla et al., 2011). Finalmente, en una menor concentración se encuentran los flavan-3-oles (Serradilla et al., 2017).

Varios QTLs implicados en la regulación de estos compuestos han sido identificados en cerezo. Calle et al. (2021) identificaron un QTL principal para la regulación de las antocianinas en el cromosoma 3, en la misma región donde se han identificado QTL principales asociados a la regulación del color (Calle et al. 2021, Jin et al., 2016; Sooriyapathirana et al., 2010). Además, detectaron QTLs menores implicados en la regulación de antocianinas en los grupos de ligamiento (GLs) 4 y 7. Calle et al. (2021) también detectaron un QTL principal para la regulación de los ácidos hidroxicinámicos en la parte inferior del GL1, junto con otros QTLs menores en los grupos 3 y 4 (Calle et al., 2021). Sin embargo, para los flavonoles y los flavan-3-oles no se han llevado a cabo estudios genéticos en cerezo. En este trabajo se identificaron y cuantificaron los principales compuestos fenólicos presentes en diferentes familias de cerezo con el objetivo de mapear los principales QTLs asociadas a la regulación del contenido de estos compuestos en esta especie.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se identificaron y cuantificaron los principales compuestos fenólicos presentes en cerezo durante dos años (2018 y 2021) en todos los individuos de cinco familias de cerezo (N=166 y 261). Tres de las familias han sido obtenidas por polinización cruzada (F₁) y las otras dos provenientes de autopolinización (F₂). El fenotipado del contenido de polifenoles se realizó a partir de una muestra de frutos de cada individuo, la cual se almacenó a -20°C hasta su posterior análisis. La muestra de frutos se descongeló y homogenizó para poder llevar a cabo la extracción de los compuestos fenólicos según el protocolo descrito por Serradilla et al. (2011). Los extractos fueron analizados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para llevar a cabo la identificación y cuantificación de los compuestos, utilizando un detector de matriz de diodo UV-Vis (DAD) y un detector de espectrofotómetro de barrido rápido de fluorescencia (FLD). El estudio de la distribución y correlación entre los compuestos se llevó a cabo utilizando R v4.4.0 (R Core Team, 2024). Los resultados fenotípicos se utilizaron para la detección de los QTLs utilizando el software FlexQTL™ y los mapas genéticos de las familias, que habían sido previamente genotipadas con el Illumina 6K Cherry SNP array (Calle et al., 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron 17 compuestos fenólicos: cuatro ácidos hidroxicinámicos, cuatro antocianinas, cuatro flavonoles y dos flavan-3-oles. La antocianina mayoritaria fue la cianidina 3-*O*-rutinósido con un contenido medio para los dos años estudiados de $49,62 \pm 50,61$ mg/ 100 g de PF. Dentro de los ácidos hidroxicinámicos, el ácido mayoritario fue el ácido neoclorogénico con un contenido medio durante los años analizados de $39,57 \pm 24,68$ mg / 100 g de PF. La quercetina 3-*O*-rutinósido ($5,92 \pm 3,61$ mg/100g de PF) y la epicatequina ($4,73 \pm 4,34$ mg/100 g de PF) fueron los compuestos mayoritarios dentro de los flavonoles y los flavan-3-oles, respectivamente. Los valores medios de estos compuestos se encontraron dentro de los rangos previamente descritos (Calle et al., 2023; Serradilla et al., 2017). La distribución de los compuestos fue ampliamente segregante y no se ajustó

a la normalidad para ninguno de los compuestos mayoritario. Dichos compuestos presentaron unas correlaciones interanuales alta, con un coeficiente de correlación de Spearman entorno al 0,65, a excepción de la epicatequina ($\rho = 0,40$).

El análisis preliminar de QTLs reveló un total de 95 QTLs identificados para todos los compuestos estudiados. El principal QTL para la cianidina 3-*O*-rutinosido se detectó en el GL3 en la misma región previamente descrita para este compuesto y el color (Calle et al., 2021; Jin et al., 2016; Sooriyapathirana et al., 2010). Además, se identificaron cuatro QTL menores no estables en los GLs 2, 3 y 8. Para el ácido neoclorogénico se identificaron tres QTLs estables durante los dos años analizados en los GLs 1, 3 y 4 en las mismas regiones descritas por Calle et al. (2021). Para la quercetina 3-*O*-rutinosido se detectaron dos QTLs estables durante los dos años estudiados, el principal fue en el GL4 y otro menor en el GL3. Para la epicatequina no se obtuvieron QTLs estables durante los dos años. Estos resultados contribuyen al avance en el conocimiento sobre la regulación genética de los compuestos fenólicos para su aplicación en los programas de mejora en cerezo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es parte del proyecto de I+D+i PID2019-103985RR-I00 financiado por MICIU/AEI /10.13039/501100011033, y de la ayuda PRE2020-095382 financiada por MICIU/AEI /10.13039/501100011033 y por FSE invierte en tu futuro.

REFERENCIAS

- Antognoni, F., Potente, G., Mandrioli, R., Angeloni, C., Freschi, M., Malaguti, M., Hrelia, S., Lugli, S., Gennari, F., Muzzi, E., & Tartarini, S. 2020. Fruit quality characterization of new sweet cherry cultivars as a good source of bioactive phenolic compounds with antioxidant and neuroprotective potential. *Antioxidants*, 9(8), 677.
- Calle, A., Cai, L., Iezzoni, A., & Wünsch, A. 2018. High-density linkage maps constructed in sweet cherry (*Prunus avium* L.) using cross- and self-pollination populations reveal chromosomal homozygosity in inbred families and non-syntenic regions with the peach genome. *Tree Genet. Genomes*, 14(3), 37.
- Calle, A., Serradilla, M. J., & Wünsch, A. 2021. QTL mapping of phenolic compounds and fruit colour in sweet cherry using a 6+9K SNP array genetic map. *Sci. Hortic.*, 280, 109900.
- Calle, A., Wünsch, A., Quero-García, J., & Serradilla, M. J. 2023. Current advances in health related compounds in sweet cherry (*Prunus Avium* L.). En C. Kole (ed.), *Compendium of Crop Genome Designing for Nutraceuticals* (1-19). Springer Nature, Singapore.
- Chezanoglou, E., Mourtzinis, I., & Goula, A. M. 2024. Sweet cherry and its by-products as sources of valuable phenolic compounds. *Trends in Food Sci. Technol.*, 145, 104367.
- Chockchaisawasdee, S., Golding, J. B., Vuong, Q. V., Papoutsis, K., & Stathopoulos, C. E. (2016). Sweet cherry: Composition, postharvest preservation, processing and trends for its future use. *Trends in Food Sci. Technol.* 55, 72-83.
- Fonseca, L. R. S., Silva, G. R., Luís, Â., Cardoso, H. J., Correia, S., Vaz, C. V., Duarte, A. P., & Socorro, S. 2021. Sweet cherries as anti-cancer agents: from bioactive compounds to function. *Molecules*, 26(10), 2941.
- Jin, W., Wang, H., Li, M., Wang, J., Yang, Y., Zhang, X., Yan, G., Zhang, H., Liu, J., & Zhang, K. 2016. The R2R3 MYB transcription factor PavMYB10.1 involves in anthocyanin biosynthesis and determines fruit skin colour in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Plant Biotechnol. J.*, 14(11), 2120-2133.
- McCune, L. M., Kubota, C., Stendell-Hollis, N. R., & Thomson, C. A. 2010. Cherries and health: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51(1), 1-12.
- Serradilla, M. J., Akšić, M. F., Manganaris, G. A., Ercisli, S., González-Gómez, D., & Valero, D. 2017. Fruit chemistry, nutritional benefits and social aspects of cherries. En J. Quero-García, A.

- Lezzoni, J. Puławska, & G. Lang (eds.), *Cherries: Botany, production and uses* (420-441). CABI, Londres.
- Serradilla, M. J., Lozano, M., Bernalte, M. J., Ayuso, M. C., López-Corrales, M., & González-Gómez, D. (2011). Physicochemical and bioactive properties evolution during ripening of 'Ambrunés' sweet cherry cultivar. *LWT - Food Sci. Techno.*, 44(1), 199-205.
- Sooriyapathirana, S. S., Khan, A., Sebolt, A. M., Wang, D., Bushakra, J. M., Lin-Wang, K., Allan, A. C., Gardiner, S. E., Chagné, D., & Iezzoni, A. F. (2010). QTL analysis and candidate gene mapping for skin and flesh color in sweet cherry fruit (*Prunus avium* L.). *Tree Genet. Genomes*, 6(6), 821-832.