

BÚSQUEDA DE MARCADORES MOLECULARES LIGADOS AL GEN *fom-4* EN MELÓN

Oumouloud A.^{1,2}, González-Torres R.², Chikh-Rouhou H.², Garcés-Claver A.², Alvarez J.M.²

¹ Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Agadir BP. 121, Km 2, Route de Taroudant, 80150, Ait Melloul, Marruecos.

² Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, 930, 50080, Zaragoza, España.

RESUMEN

Se ha utilizado la metodología BSA para localizar marcadores RAPD ligados a la resistencia de *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (*Fom*) raza 0 y 2, en el cruce entre la línea de melón (*Cucumis melo* L.) ‘Tortuga’, portadora del gen de resistencia recesivo denominado *fom-4*, y una línea susceptible de tipo ‘Piel de Sapo’. Para ello, se han construido ocho grupos con ADN obtenido de plantas F₃; cuatro de plantas resistentes y cuatro de plantas susceptibles. Se identificaron 3 marcadores RAPDs OPM11, OPN13 y OPV17 ligados al locus *fom-4*. Se están llevando a cabo trabajos relacionados con el mapeo de dichos marcadores y su conversión en marcadores más específicos.

INTRODUCCIÓN

La fusariosis vascular del melón (*Cucumis melo* L.), causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (*Fom*), está ampliamente extendida a nivel mundial. Un control efectivo sólo puede ser proporcionado a través de la resistencia genética. Actualmente, hay descritas cuatro razas fisiológicas de *Fom*: 0, 1, 2, y 1,2. La resistencia a las razas 1 y 2 está conferida por los genes dominantes *Fom-2* y *Fom-1* respectivamente; ambos genes también controlan la resistencia a la raza 0, mientras que la resistencia a la raza 1,2 parece tener un control poligénico (Risser et al., 1976). Recientemente, Oumouloud et al. (2010) identificaron en la entrada española de melón ‘Tortuga’ un nuevo gen recesivo (*fom-4*) que, junto con *Fom-1*, confiere resistencia a las razas 0 y 2. El objetivo del presente trabajo ha sido la búsqueda de marcadores moleculares tipo RAPD ligados a *fom-4* en ‘Tortuga’ siguiendo el procedimiento ‘Bulk Segregant Analysis’ (BSA).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se desarrollaron las generaciones F₁ y F₂ entre ‘Tortuga’, y una línea susceptible del tipo ‘Piel de Sapo’. El análisis de 100 plantas F₂ con el marcador 618-CAPS, estrechamente ligado a *Fom-1* (Oumouloud et al., 2010), permitió seleccionar 20 plantas no portadoras del gen *Fom-1*. Dichas plantas se auto-fecundaron y se generaron familias F₃. Para establecer los bulks, se inocularon 20 plantas de cada F₃ con *Fom* raza 2, según el método descrito en Oumouloud et al. (2010). Las familias resistentes que no mostraron segregación resistentes:susceptibles se seleccionaron para constituir los bulks resistentes, y las que se comportaron homogéneamente susceptibles se utilizaron para crear los bulks susceptibles. Las familias F₃ que mostraron segregación fueron descartadas. Se utilizaron 4 bulks resistentes formado cada uno por ADN de 5 plantas resistentes homocigotas (*fom1fom4/fom1fom4*) y 4 susceptibles preparados cada uno a partir del ADN de 5 plantas susceptibles (*fom1Fom4/fom1Fom4*). La extracción del ADN genómico, su amplificación y la visualización de los productos de amplificación por electroforesis se realizaron según Oumouloud et al. (2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las veinte líneas F₃ inoculadas con la raza 2 de *Fom*, tres fueron resistentes, cuatro susceptibles y trece segregaron para la resistencia lo que supone que presentan los genotipos

fom1fom4/fom1fom4, *fom1Fom4/fom1Fom4*, y *fom1Fom4/fom1fom4* respectivamente. De los 144 cebadores RAPD evaluados, 72 cebadores generaron polimorfismos entre los parentales ‘Tortuga’ y ‘Piel de Sapo’. Se identificaron 3 marcadores RAPD OPN13, OPM11, y OPV17, posiblemente ligados al locus *fom-4*. Los fragmentos amplificados por los cebadores OPM11 y OPN13 están ligados en fase de repulsión al locus *fom-4*, mientras que el marcador OPV17 apareció ligado en repulsión, a este locus.

En futuros trabajos estos tres fragmentos RAPD, se clonarán y se secuenciarán para diseñar a partir de ellos cebadores más específicos. Además para estimar la distancia genética entre estos marcadores y el locus *fom-4* se está desarrollando una población F₂ a partir de la F₁ derivada del cruce entre plantas resistentes F₃ (*fom1fom4/fom1fom4*) y el parental susceptible ‘Piel de Sapo’. El análisis de las plantas individuales de la población F₂ con los tres marcados servirá para estimar la distancia genética locus-marcadores.

REFERENCIAS

- Oumouloud, A., Arnedo-Andrés, M.S., González-Torres, R. and Álvarez, J.M. 2010. Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* races 0 and 2 in melon accession Tortuga. *Euphytica* 176: 183-189.
- Oumouloud, A., Arnedo-Andrés, M.S., González-Torres, R., Álvarez, J.M. 2008. Development of molecular markers linked to the *Fom-1* locus for resistance to *Fusarium* race 2 in melon. *Euphytica* 164: 347-356.
- Risser, G., Banihashimi, Z., Davis, D.W. 1976. A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo*. *Phytopathology* 66: 1105–1106.