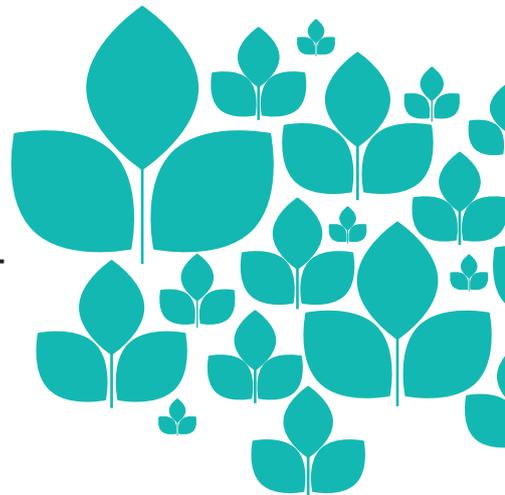




# CONGRESO NACIONAL de MEJORA de GENÉTICA de PLANTAS

# 2022

**pontevedra**  
19 - 22 set | pazo da cultura



## Libro de Resúmenes

### organizan



### colaboran



### patrocina



## Validación de nuevos genes de referencia para estudios de expresión diferencial de genes involucrados en la síntesis de antocianinas en lechuga (*Lactuca sativa* L.) y especies silvestres relacionadas

Inés Medina-Lozano<sup>1,2</sup>, María Soledad Arnedo<sup>3</sup>, Jérôme Grimplet<sup>1,2</sup>, Aurora Díaz<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencia Vegetal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avd. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España

<sup>2</sup>Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50013, Zaragoza, España

<sup>3</sup>Ramiro Arnedo S.A. Paraje La Molina 54, Las Norias de Daza, 04716 Almería, España

\* Autor para correspondencia: [adiazb@cita-aragon.es](mailto:adiazb@cita-aragon.es)

**Palabras Clave:** Antocianinas, Genes de referencia, *Lactuca*, PCR cuantitativa en tiempo real, RNA-seq

**Resumen:** la lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una de las hortalizas de hoja más populares a nivel mundial. Además, su consumo ha aumentado en los últimos años porque es fuente de compuestos bioactivos y existe un mayor interés entre los consumidores por los efectos de la alimentación sobre la salud. Un ejemplo de estos compuestos son las antocianinas, potentes antioxidantes presentes únicamente de las variedades de hoja roja o semi-roja.

Para llevar a cabo estudios de expresión de genes relacionados con la síntesis de antocianinas mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) resulta fundamental la selección de genes de referencia con expresión estable que nos permitan realizar una normalización correcta de los datos y, por tanto, la obtención de unos resultados fiables. En este estudio se han seleccionado ocho genes putativos de referencia para análisis de expresión génica en tres experimentos diferentes: *i*) comparación según el color de la hoja de la lechuga (variedad comercial verde *versus* variedad comercial roja); *ii*) comparación de tejidos en una especie silvestre de *Lactuca* (hoja *versus* tallo); *iii*) ensayo de estrés hídrico en una variedad de lechuga comercial, una variedad de lechuga tradicional y una especie silvestre relacionada (control *versus* DH3 y DH4). Su selección se ha basado en los datos de expresión génica obtenidos a partir de la secuenciación de ARN mensajero de dichas muestras mediante RNA-seq. En primer lugar, se filtraron los genes con una expresión estable en todas las muestras y dentro de ellos se buscaron los potencialmente constitutivos para los que además se dispusiera de una alta cobertura de secuencia. Para ello, se realizó un ANOVA y una comparación de medias entre los grupos dentro de cada uno de los tres experimentos, seleccionándose aquellos que no presentaran diferencias significativas. Los genes candidatos seleccionados fueron *ADF2*, *COPI0*, *CYB5*, *GRDPI*, *iPGAM*, *SCL13*, *TRXL3-3* y *VHA-H*. Su expresión se ha validado mediante qPCR del ADN copia procedente de las muestras de los tres ensayos descritos arriba, analizándose la eficiencia de la amplificación y ofreciéndose rankings de estabilidad calculada con los algoritmos geNorm, NormFinder, BestKeeper y el método Delta Ct.

Este estudio demuestra que los datos de RNA-seq son una nueva fuente para la selección de genes de referencia, que permite identificar los más estables en muestras y bajo condiciones específicas, aunque la validación mediante qPCR u otra técnica equivalente sigue siendo aconsejable. Además, el ranking propuesto de nuevos genes de referencia podría resultar útil para futuros estudios de comparación de la expresión génica según el color de la hoja, el tejido y el régimen de riego en distintas *Lactuca* spp.