

VARIABILIDAD ALÉLICA DEL GEN *PAMT* EN ESPECIES DEL GÉNERO *CAPSICUM*

L. Mestre, O. Fayos*, C. Mallor y A. Garcés-Claver

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Unidad de Hortofruticultura. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. *ofayos@cita-aragon.es

Palabras clave: capsinoides, capsicinoides, mutación, picor, pimiento.

INTRODUCCIÓN

Los frutos de pimiento (*Capsicum* spp) son ampliamente utilizados en la gastronomía mundial, consumiéndose en fresco, cocinados o procesados en forma de especia. Uno de los principales caracteres de calidad es la presencia o ausencia de picor de sus frutos. El picor del pimiento se debe, en esencia, a la presencia de unos compuestos alcaloides denominados capsicinoides. En los últimos años se han identificado unos compuestos análogos, denominados capsinoides, cuyo picor es aproximadamente 1.000 veces menor respecto al de los capsicinoides (Tanaka et al., 2015). Ambos tipos de compuestos, específicos del género *Capsicum*, se biosintetizan en la placenta de los frutos. Numerosos estudios avalan la utilidad de estos compuestos para tratar enfermedades como el cáncer, la artritis, problemas digestivos y otros asociados a la vesícula biliar (Bortolotti, 2013). Además, la leve sensación de picor producida por los capsinoides, favorece el consumo de frutos con elevadas concentraciones de estos compuestos, lo cual podría repercutir beneficiosamente en la salud del consumidor. Los resultados obtenidos del análisis del contenido de capsinoides y capsicinoides, realizados en entradas de pimiento poco o nada picantes, asociados a la pérdida de función del gen que codifica la aminotransferasa *pAMT*, han mostrado que las mutaciones ocurridas en *pamt* son el principal factor genético que afectaría al bajo picor en *C. chinense* (Tanaka et al., 2015). Hasta la fecha se han identificado y caracterizado un total de 7 alelos mutados de *pamt*, principalmente en las especies *C. annuum* y *C. chinense* y recientemente en una entrada de *C. frutescens* (Tanaka et al., 2015; Park et al., 2015). Sin embargo, se sabe muy poco sobre el estado alélico de *pAMT* en otras especies y su influencia en el contenido de capsinoides y capsicinoides. Por ello, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar la variabilidad alélica del gen *pAMT* en diferentes entradas pertenecientes a nueve especies del género *Capsicum*, con distinto grado de picor.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han analizado 100 entradas pertenecientes a las siguientes especies del género *Capsicum*: *C. chinense*, *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. pubescens*, *C. baccatum*, *C. cardenasii*, *C. chacoense*, *C. galapagoense* y *C. tovarii*. Las plantas fueron cultivadas en invernadero en las instalaciones del CITA, con temperaturas que variaron entre 15 y 25°C. La extracción de ADN, a partir de hojas jóvenes, se realizó siguiendo el protocolo descrito por Garcés-Claver et al. (2007). Las amplificaciones de los fragmentos correspondientes al gen *pAMT* se realizaron utilizando siete parejas de cebadores descritos por Tanaka et al. (2015). Los productos de PCR fueron separados en geles de agarosa. En aquellas entradas en las que se detectaron productos de amplificación cuyo tamaño podía corresponder con el alelo mutado o no correspondía al esperado para el alelo mutado o el silvestre, se purificaron y secuenciaron los fragmentos amplificados. Las secuencias obtenidas fueron alineadas con las secuencias de referencia de cada alelo disponibles en el GenBank mediante el programa MEGAv6 (Tamura et al., 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 100 entradas analizadas se han encontrado 14 con alelos mutados de *pamt*. Estos fragmentos fueron purificados y secuenciados. El alelo *pamt*³, con una inserción de 5 pb en el 8º exón y caracterizado en la entrada *C. chinense* Belice Sweet, ha sido identificado en la entrada C-404, también *C. chinense*, con un nivel medio-bajo de picor. El alelo *pamt*⁴, caracterizado a partir del cultivar *C. chinense* Zavory Hot, no ha sido detectado en ninguna entrada. Sin embargo, cuando utilizamos los cebadores diseñados para amplificar la mutación descrita en este alelo, se detectó otro fragmento no esperado. Al secuenciarlo, se observó una delción no descrita anteriormente, correspondiendo a un nuevo alelo *pamt*⁵. Este nuevo alelo ha sido identificado en 5 entradas de *C. pubescens*, 3 de *C. eximium* y una de *C. cardenasii*.

Esta delección se ha localizado en la misma posición de la secuencia genética en la que está la inserción de 2.3 kb en el 5º intrón del alelo mutado *pamt*^d. Estos resultados ponen de manifiesto, no sólo la identificación de un nuevo alelo de *pamt*, sino también su presencia en tres nuevas especies de *Capsicum*. El alelo *pamt*^e, con una inserción de 8 pb en el 6º exón y caracterizado a partir del cultivar *C. chinense* Aji Dulce strain2, ha sido identificado en las entradas C-449 y C-371. Ambas entradas también pertenecen a la especie *C. chinense*, sin embargo, lo relevante de este resultado es que la entrada C-449 es muy picante. Por primera vez, se ha identificado un alelo mutado de *pamt* en una entrada con altos niveles de picor. Respecto a los alelos *pamt*^f y *pamt*^g, no se han encontrado entradas que los contengan.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto INIA-FEDER (RTA2011-00118-C02-01) y el Gobierno de Aragón (Grupo de Investigación A16).

REFERENCIAS

- Garcés-Claver, A., Fellman, S.M., Gil-Ortega, R., Jahn, M. and Amedo-Andrés, M.S. 2007. Identification, validation and survey of a single nucleotide polymorphism (SNP) associated with pungency in *Capsicum* spp. *Theor. Appl. Genet.* 115: 907-916.
- Tanaka, Y.M., Sonoyama, T., Muraga, Y., Koeda, S., Goto, T., Yoshida, Y. and Yasuba, K. 2015. Multiple loss-of-function putative aminotransferase alleles contribute to low pungency and capsinoid biosynthesis in *Capsicum chinense*. *Mol. Breeding* 35:142-155.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729.
- Park, Y.J., Nishikawa, T., Minami, M., Nemoto, K., Iwasaki, T. and Matsushima, K. 2015. A low-pungency S3212 genotype of *Capsicum frutescens* caused by a mutation in the putative aminotransferase (*p-AMT*) gene. *Mol. Genet. Genomics* 290: 2217-2224.
- Bortolotti, M. 2013. Red pepper: from the kitchen to the pharmacy. *J. Gastrointest. Liver Dis.* 22: 253-256.