

RESUMEN

La enfermedad de la sharka, causada por el *Potyvirus plumipoxi* (PPV), constituye la principal limitación para la producción de frutales de hueso a nivel mundial, y el desarrollo de cultivares resistentes sigue siendo la estrategia de control más sostenible. A pesar de más de dos décadas de investigación, la base molecular de la resistencia al PPV continúa estando solo parcialmente comprendida. En albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.), se ha identificado un locus principal de resistencia en el cromosoma 1 (*PPVres*). Dentro de este locus, se encuentran dos genes parálogos, *ParPMC1* y *ParPMC2*, que presentan variantes asociadas en acoplamiento con la resistencia a PPV (Zuriaga et al. 2018). Entre ellas, *ParPMC2* contiene una delección de 5-pb en el segundo exón que provoca un cambio en la pauta de lectura y se predice que causa la pérdida de función. Los cultivares de albaricoquero portadores del alelo resistente (mutado) *ParPMC2*-del muestran una reducción marcada o ausencia total de expresión tanto de *ParPMC2* como, en mayor medida, de *ParPMC1*. En este contexto, los resultados presentados en esta tesis ofrecen una visión integradora de los mecanismos moleculares y genéticos que subyacen a la resistencia al PPV en albaricoquero.

La primera parte de esta tesis se centra en la caracterización molecular de los genes *ParPMC* y su posible papel como factores de susceptibilidad. Los análisis de expresión en distintos tejidos foliares de cultivares resistentes y susceptibles mostraron que ambos genes se expresan preferentemente en los tejidos vasculares de los genotipos susceptibles, lo que sugiere su implicación en el movimiento sistémico del virus. Los ensayos de localización subcelular revelaron que *ParPMC1* se localiza en el citoplasma y el núcleo, mientras que *ParPMC2* se asocia principalmente a la envoltura nuclear, y ambos alteran su localización tras la infección por PPV. Estos resultados apuntan a un posible papel de las proteínas *ParPMC* en procesos relacionados con el tráfico nucleocitoplasmático y la formación de complejos de replicación viral. Además, los ensayos funcionales en *Nicotiana benthamiana* confirmaron que el silenciamiento mediado por TRV-VIGS del ortólogo único *NbPMC* provoca una reducción en la acumulación y diseminación sistémica del virus, demostrando que los genes *ParPMC* actúan como factores de susceptibilidad del hospedador. Los ensayos de doble híbrido de levadura (Y2H) y complementación bimolecular de fluorescencia (BiFC) identificaron varias proteínas que interactúan con *ParPMC1* y/o *ParPMC2*. Entre ellas, destacó eEF1A, cuya función se validó en *N. benthamiana* mediante silenciamiento con CMV-VIGS, lo que resultó en una notable reducción de la acumulación sistémica de PPV. Junto con los

patrones de localización subcelular de ParPMC y eEF1A, estos resultados sugieren que ParPMC1 podría actuar como una proteína adaptadora que recluta eEF1A hacia los sitios de replicación asociados al retículo endoplasmático, facilitando así la replicación viral.

Por otro lado, los análisis de biología de sistemas mediante WGCNA reforzaron la diferenciación funcional entre *ParPMC1* y *ParPMC2*: mientras que *ParPMC1* se agrupó con genes implicados en fotosíntesis y metabolismo del ARN, *ParPMC2* se asoció con rutas de biosíntesis de aminoácidos y folatos. Entre los interactores identificados en los experimentos de Y2H, *Pruar12* (taumatina) mostró coexpresión con *ParPMC2*, sugiriendo una posible relación funcional. Para complementar estos resultados transcriptómicos, los interactores de ParPMC se integraron en la red de interacciones proteína-proteína de *Arabidopsis*-Potyvirus. Este análisis reveló que varios ortólogos de albaricoquero, incluyendo *Pruar6* (chaperonina CPN60B) y *Pruar8* (Rubisco activasa RCA), están funcionalmente conectados con proteínas potyvirales a través de subunidades del proteasoma, lo que indica que PPV podría explotar las vías de degradación de proteínas del hospedador para facilitar la infección.

La segunda parte de la tesis se centra en los aspectos genéticos y aplicados de la resistencia al PPV, especialmente en la optimización de herramientas moleculares para la mejora genética. Se desarrolló un sistema de selección asistida por marcadores (SAM) eficiente y de bajo coste, combinando la extracción de ADN de alto rendimiento con el genotipado alelo-específico de *ParPMC2*-del en geles de agarosa. Sin embargo, las inconsistencias entre genotipo y fenotipo observadas en algunas accesiones indicaron la implicación de factores genéticos adicionales. El análisis de tres poblaciones segregantes reveló que la combinación de haplotipos resistentes (*R*) y susceptibles (*S*) en el locus *PPVres* influye en el grado de resistencia, y que la similitud de secuencia entre ambos haplotipos se correlaciona con la eficiencia del silenciamiento y la expresión fenotípica. La incorporación de la información de los haplotipos *S* en el esquema SAM mejoró significativamente la precisión predictiva, resaltando la importancia de considerar la diversidad alélica y los efectos de dosis génica en los programas de mejora. Además, el mapeo de QTLs en la población 'Goldrich × Canino' confirmó el efecto mayoritario del locus *PPVres*, pero también identificó loci menores en los cromosomas 6 y 7, lo que sugiere un componente poligénico en la resistencia. De forma interesante, algunos de los interactores de ParPMC detectados en el cribado mediante Y2H colocalizan con estos QTLs menores, proporcionando un posible vínculo entre las interacciones moleculares y la arquitectura genética subyacente a la resistencia al PPV.

En conjunto, este trabajo conecta los mecanismos moleculares y la herencia genética de la resistencia al PPV en albaricoquero, revela cómo los genes *ParPMC* y sus interactores contribuyen a la susceptibilidad viral, identifica loci adicionales implicados en la resistencia y puede traducir estos hallazgos en herramientas moleculares mejoradas para la mejora genética. En su conjunto, estos avances profundizan en la comprensión de las interacciones PPV-*Prunus* y respaldan el desarrollo de cultivares más resilientes.