

Resum

A pesar dels enormes beneficis potencials que ofereixen els cítrics genèticament modificats (GM), el seu alliberament en camp suscita preocupacions sobre el seu potencial impacte ambiental i la possibilitat que mostrin efectes deleteris inesperats des d'un punt de vista agronòmic. Les principals preocupacions que planteja l'ús de la transformació genètica per a la millora d'aquest cultiu de vida llarga, propagació vegetativa i complexa biologia reproductiva són: (1) la transferència dels transgens via pol·len a varietats compatibles d'espècies de *Citrus* i afins; (2) l'estabilitat dels transgens a llarg termini; (3) l'aparició d'efectes pleiotròpics adversos derivats de la integració i l'expressió dels transgens sobre les principals característiques agronòmiques i fenotípiques del cultiu. Totes aquestes qüestions han sigut àmpliament estudiades en altres cultius anuals GM que ja són o no comercials. No obstant això, ja que l'ús de la transformació genètica en la millora d'arbres fruiters encara es troba en els seus inicis, actualment es disposa de molt poca informació al respecte per aquests cultius. Per tot això, el futur dels arbres transgènics en l'àmbit comercial roman encara incert, encara que actualment es disposa de la tecnologia per produir-los. D'altra banda, en el cas concret dels cítrics, no existeixen varietats transgèniques comercials ni evidències inequívocues que aquesta eina sigui realment útil per afrontar amb èxit objectius de millora concrets. Aconseguir complir objectius de millora tan importants com la millora de la qualitat nutri-funcional dels fruits cítrics mitjançant l'enginyeria genètica podria contribuir a una major acceptació d'aquesta tecnologia per part del públic, ja que es tracta d'una millora dirigida primerament al consumidor.

En aquest treball ens hem plantejat afrontar part dels aspectes que en gran mesura limiten l'acceptació i comercialització de cítrics GM, mitjançant (1) la realització d'un experiment de camp amb cítrics GM per avaluar la seva seguretat ambiental i l'absència d'efectes agronòmics adversos (2) l'abordatge d'un objectiu de millora de la qualitat nutri-funcional de la taronja concret mitjançant enginyeria metabòlica amb la finalitat de reforçar les seves propietats saludables.

L'experiment de camp va consistir en una plantació de cítrics transgènics que portaven únicament els gens marcadors *uidA* i *nptII*, quina finalitat va ser estudiar la viabilitat de la transformació genètica en la millora de genotips cítrics comercialment importants. Aquest hort experimental ens va servir per estimar la freqüència màxima de dispersió dels transgens per pol·len baix condicions de pol·linització oberta i estudiar els factors ambientals, genètics i fenològics que la determinen, per així poder proposar mesures de contenció apropiades en futures plantacions de cítrics GM. També va servir com a primera aproximació per abordar qüestions bàsiques com l'estudi de l'estabilitat de l'expressió dels transgens a llarg termini (després de 7 anys d'establiment en camp) en condicions reals de cultiu i el seu potencial impacte sobre la morfologia, fenologia i qualitat de la fruita dels cítrics transgènics. Els estudis realitzats, encara que no resolen totes les preocupacions concernents als cítrics GM, aporten informació crucial relativa a la seva seguretat i comportament en camp, inexistent fins al

moment, que pot servir com a base per a futurs assajos de camp amb cítrics GM i com a guia per les polítiques de regulació de la seva plantació (cas-a-cas).

D'altra banda, en aquest treball s'ha aconseguit desenvolupar una estratègia per induir producció precoç de fruita i incrementar el contingut de β -carotè (provitamina A, amb elevada capacitat antioxidant) a la polpa d'una varietat de taronger dolç mitjançant enginyeria metabòlica. Aquesta estratègia va consistir en el silenciament mediat per RNAi del gen d'una β -carotè hidroxilasa de taronger (*Cs β CHX*), implicada en la conversió de β -carotè en xantofilas, combinat amb la sobreexpressió del gen *FLOWERING LOCUS T* de taronger (*CsFT*) en plantes transgèniques juvenils de taronger dolç cv Pineapple. Posteriors assajos amb l'animal model *Caenorhabditis elegans* van demostrar que la taronges enriquides exercien un efecte antioxidant *in vivo* un 20% major que les taronges control isogèniques. Aquest és el primer exemple exitós d'enginyeria metabòlica per incrementar el contingut de β -carotè (o qualsevol fitonutrient) en taronges i demostra el potencial que té l'enginyeria genètica per a l'enriquiment nutricional de cultius fruiters llenyosos.