

PROYECTO: PROSPECCIÓN, CONSERVACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y DOCUMENTACIÓN DEL BANCO DE GERMOPLASMA DE FRUTALES DEL CITA

ORGANISMO FINANCIADOR



CONVOCATORIA

Apoyo a la conservación de los recursos genéticos de interés agroalimentario. Recursos fitogenéticos

<http://www.boe.es/boe/dias/2010/12/21/pdfs/BOE-A-2010-19639.pdf>

REFERENCIA

RF2011-00020-C02-01

INVESTIGADOR PRINCIPAL

José Manuel Alonso Segura

EQUIPO DE TRABAJO



- Pilar Errea Abad
- María José Rubio Cabetas
- Ana Palacio Bielsa
- Carmen Villalba Gómez
- María Teresa Espiau Ramírez
- Isabel Berruete Rodríguez
- Rafael Socias i Company
- Joaquín Gómez Aparisi
- Javier Sanzol Sanz
- Miguel Cambra Álvarez
- Ángel Fernández Martí

FECHA INICIO

Diciembre 2011

FECHA FINAL

Junio 2015

RESÚMEN DEL PROYECTO

En Zaragoza se encuentran las mayores colecciones de germoplasma de frutales de hueso y pepita de España, creadas a partir de prospecciones realizadas en los años 50 y 60. El material autóctono siempre ha tenido un papel relevante en estas colecciones. Con la creación de las autonomías, el Gobierno de Aragón se responsabilizó de las colecciones de referencia nacional de almendro (*Prunus amygdalus*), melocotonero (*Prunus pérsica*), peral (*Pyrus communis*) y patrones del Género *Prunus*. Estas colecciones componen el actual el Banco de Germoplasma de Frutales del CITA. En los años posteriores a la creación de las colecciones, su conservación y ampliación ha sido posible al interés de este material para los programas de mejora genética de estas especies que se llevan a cabo en el CITA hasta llegar a las más de 860 accesiones conservadas en este momento.

A pesar de la riqueza del banco, existen “variedades” en desuso con caracteres adaptativos de interés que no se hallan conservados en ningún banco de germoplasma y se encuentran en riesgo real de extinción. La preservación de estos recursos es de gran interés no solo para estudiar en profundidad algunos de los caracteres de mayor interés agronómico en estas especies (autoincompatibilidad, latencia, firmeza del fruto, etc.), sino también para abordar nuevos objetivos dentro de los programas de mejora genética, encontrar soluciones a futuros problemas sanitarios o ambientales.

Por ello se planteó augmentar la base genética de las colecciones del Banco de Germoplasma de Frutales del CITA con el fin de encontrar genes de resistencia o tolerancia a los diferentes estreses bióticos y abióticos que se manifiestan en el ciclo productivo de estos frutales. Estos genotipos tienen un elevado interés como genitores en los programas de mejora genética, contribuyendo a que las futuras plantaciones frutales más eficientes y sostenibles, con un menor impacto sobre el medio ambiente, reduciendo la aplicación de fertilizantes de síntesis química y de productos fitosanitarios, minimizando el consumo de agua de riego, así como la intervención humana en el cultivo. Sin embargo, actualmente la introducción de nuevas accesiones a las colecciones resulta desaconsejable, consecuencia del riesgo de infección de las mismas por las bacterias de cuarentena europea *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* para las especies del género *Prunus* y *Erwinia amylovora* para las especies del género *Pyrus*. Consecuencia de ello, las labores de prospección de este proyecto se han limitado a la localización de genotipos de interés y realizar una caracterización preliminar *in situ*, destacando los 18 melocotoneros y 27 perales prospectados.

La renovación y conservación de las colecciones es fundamental para que el material vegetal esté disponible en las mejores condiciones fitosanitarias posibles. Las colecciones deben ser renovadas para que las variedades puedan ser estudiadas expresando su potencial. En los últimos años, el estudio de las distintas accesiones de las colecciones han puesto en evidencia importantes problemas fitosanitarios, como la presencia del fitoplasma causante del “Decaimiento del Peral” (“*Candidatus Phytoplasma pyri*”) transmitido por la *Psylla* en bastantes clones de la colección nacional de peral, problema controlado pero latente tras la renovación de la colección de peral injertada en patrón OHx F 87 (Alonso et al., 2007) resistente a dicho fitoplasma.

La situación de las colecciones nacionales del género *Prunus* (almendro, melocotonero y patrones) también es preocupante, ya que además de encontrarse muy envejecidas, presentan un elevado grado de infección de virus y viroides (Alonso y Rubio-Cabetas, 2010). A este panorama, se suma la aparición de la bacteria *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (*Xap*), causante de la mancha bacteriana de los frutales de hueso y del almendro, considerada organismo de cuarentena en la UE.

Por todo ello, en el proceso de conservación de las colecciones del género *Prunus* del CITA, el control y erradicación de esta infección resulta fundamental, siendo una parte importante del trabajo realizado dentro de este proyecto, la duplicación de las accesiones autóctonas libres de *Xanthomonas* y su plantación en parcelas aisladas para su preservación.

Por otra parte, como consecuencia de la detección de *Erwinia amylovora* a menos de 50 km del CITA, se creó un reservorio de urgencia de las accesiones de peral no conservadas en otras colecciones. Estas accesiones se en cultivo *in vitro* y sea propagaron para trasladar un duplicado de las mismas a la Finca del CITA del Vedao, finca que se encuentra aislada de todo tipo de frutales.

En el futuro se deberá crear un protocolo de actuación frente a la posible llegada de otras enfermedades que pueden hacer peligrar las colecciones del Banco, como el virus *Plum Pox Virus* (PPV) y

las bacteriosis *Erwinia amylovora* y *Xylella fastidiosa* que pueden causar la muerte a muy corto plazo de los árboles.

Otro aspecto muy importante para el Banco de Germoplasma de Frutales del CITA es la caracterización de las accesiones y mejorar la gestión de las colecciones.

Con este proyecto se ha dado un importante avance a la caracterización de las accesiones autóctonas de las distintas especies contempladas en el proyecto. Para la caracterización morfológica de las accesiones se han utilizado formularios de caracteres morfológicos y fenológicos procedentes de las fichas descriptivas de la “Union pour la protection des Obtentions Végétales” (UPOV) y la “International Plant Genetic Resources Institute” (IPGRI), parámetros de cosecha, de calidad, así como apreciaciones subjetivas de evaluación del comportamiento agronómico y de la calidad de la cosecha.

En melocotonero, se ha realizado la caracterización morfológica del conjunto de variedades autóctonas de melocotonero. Paralelamente, se ha analizado la caracterización molecular realizada con los 16 microsatélites (SSRs) establecidos en el proyecto “Management of peach tree reference collection” CPV.8648 para melocotonero. Así se ha determinado los parámetros de variabilidad, las distancias genéticas entre variedades y la estructura poblacional de 250 variedades de la colección, de las cuales 84 son autóctonas.

En almendro, se ha realizado la caracterización del fruto de las variedades tradicionales españolas y variedades de referencia para UPOV y Bioversity International. Se ha finalizado la caracterización morfológica de flor de 145 variedades, obteniendo también de estas variedades documentación gráfica de las flores. También se ha avanzado en la determinación de la porción de aceites, ácidos grasos y tocoferoles, determinantes de la calidad de la pepita en las variedades autóctonas de almendro.

En el proyecto también se ha acabado la caracterización molecular básica con 17 SSRs de toda la colección de almendro del CITA. Se han utilizado representando todos los grupos de ligamiento del mapa genético del almendro. Por otro lado, se ha realizado un estudio estructural de toda la colección, permitiéndonos identificar la agrupación de variedades según su zona geográfica de origen o según el número de alelos que tienen los genotipos en común.

En la colección de especies silvestres del almendro, se ha avanzado en la toma de datos de caracterización morfológica y se ha profundizado en los datos de hoja, flor y fruto, trabajo que se ha completado con la obtención de imágenes de estos órganos de la planta. Igualmente se ha estudiado la diversidad genética con los mismos 17 SSRs marcadores polimórficos utilizados en el almendro.

Así mismo se han analizado el polimorfismo con marcadores SNPs procedentes del Array 9K de IPG en toda la progenie de Garfi x Nemared, los clones GN1, GN2, GN3, GN7, GN8, GN9 (Monegro), GN10, GN14, GN15 (Garnem), GN17 y GN22 (Felinem).

Con la colección de peral se han realizado los trabajos de caracterización morfológica de 38 variedades tradicionales y 39 variedades internacionales (variedades de referencia en los descriptores tanto de Bioversity International como de UPOV). De todas estas variedades se han tomado fotografías de flores, hojas y frutos.

Paralelamente se han caracterizado molecularmente 170 variedades de la colección, incluyendo la mayoría de las variedades autóctonas disponibles y algunas variedades comerciales de referencia. La caracterización se ha realizado con un conjunto de 17 SSRs contemplados en la armonización realizada por el ECPGR (European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources).

La caracterización realizada está ayudando para dilucidar posibles sinonimias, para conocer la diversidad genética y distancias genéticas entre variedades de colecciones de germoplasma, estructura poblacional de las colecciones, así como el diseño de colecciones nucleares de las mismas.

Finalmente, a lo largo de los años de estudio de las distintas accesiones del Banco de Germoplasma de Frutales del CITA se va generando mucha información sobre las mismas. Para que dicha información sea manejable de una forma ágil y eficiente, era necesario la creación de una base de datos donde introducir racionalmente la información.

Por ello en este proyecto se ha diseñado una base de datos relacional denominada BANFRUTA (Banco de Frutales del CITA), para recoger toda esta información y la presente de manera homogénea en un

formato consultable y proporcione una capacidad de gestión a los responsables del Banco. Se han elegido los motores MySQL o PostgreSQL por su escalabilidad y acceso libre. En este momento BANFRUTA se encuentra en proceso de construcción y se está dotando de contenidos a partir de la importación de las antiguas bases de datos utilizadas. BANFRUTA dispone de una aplicación basada en web que va a ofrecer catálogos online de las distintas especies del banco, mostrará las fotos y otra documentación descriptiva y agronómica de las accesiones de mayor interés. El lenguaje de programación utilizado es JAVA. Esta aplicación se aloja en un servidor Apache Tomcat alojado en un Windows 2008 Server instalado a tal efecto, con la infraestructura de red necesaria para ser accesible desde el exterior. Actualmente se está trabajando para que la web BANFRUTA pueda ser abierta al público a mediados de 2016.

DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PROYECTO

PUBLICACIONES CIENTÍFICO-TÉCNICAS

- Picañol R., Eduardo I., Aranzana M.J., Howad W., Batlle I., Iglesias I., Alonso J.M., Arús P. 2013. Combining linkage and association mapping to search for markers linked to the flat fruit character in peach. *Euphytica* 190:279-288. <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-012-0844-4>
- Fernández-Cuesta Álvaro, Ossama Kodad, Rafel Socias i Company and Leonardo Velasco. 2012. Phytosterol Variability in Almond Germplasm. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 137:343-348. <http://hdl.handle.net/10532/3066>
- Angel Fernández i Martí, Carolina Font i Forcada, Kazem Kamali, María J. Rubio-Cabetas, Michelle Wirthensohn and Rafel Socias i Company. Molecular Analyses of evolution and Population Structure in a Worldwide Almond [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb syn. *P. amygdalus* Batsch] Pool Assessed by Microsatellite Markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 62(2):205-219 DOI <http://dx.doi.org/10.1007/s10722-014-0146-x>
- Kodad O., Estopañan G., Juan T., Alonso J.M., Espiau M.T., Socias i Company R. 2014. Oil content, fatty acid composition and tocopherol concentration in the Spanish almond genebank collection. *Scientia Horticulturae* 177:99-107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2014.07.045>
- Espiau, M. T.; Alonso, J.M. Phenotypical Characterization of Landraces and Local Germplasm in the Spanish Pear Germplasm Bank in Zaragoza. *ISHS Acta Horticulturae* (en prensa)

TRABAJOS EN CONGRESOS, CONFERENCIAS... RELACIONADOS CON EL PROYECTO

ACTAS DE CONGRESOS REUNIONES, SIMPOSIOS Y SEMINARIOS

- Alonso Segura, J. M.; Espiau Ramírez M. T.; Fernández i Martí, Á; Socias i Company R. Available genetic variability in the Spanish National Peach Collection. VIII International Peach Symposium. Matera (Italy) June 17-20, 2013. <http://hdl.handle.net/10532/3067>
- Espiau, M.T.; Alonso, J.M. Phenotypical Characterization of Landraces and Local Germplasm in the Spanish Pear Germplasm Bank in Zaragoza. XII International Pear Symposium, Leuven (Belgica) 2014. <http://hdl.handle.net/10532/3067>
- Espiau, M. T.; Font i Forcada, C.; Rubio-Cabetas, , M.J.; Sanzol, J.; Alonso, J.M.; Fernandez i Marti, A. Genetic diversity in local Spanish pear cultivars assessed by molecular characterization with SSRs. XIV Eucarpia Fruit Breeding and Genetics Symposium. 14-18 June 2015. <http://hdl.handle.net/10532/3068>