



AGROALNEXT ARAGÓN

3.6. Identificación de variedades de manzano menos susceptibles al moteado y genes relacionados.

Promovido y financiado por
Iniciativa impulsada por:



Creado dentro del Plan Complementario de Agroalimentación AGROALNEXT en el marco del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia y financiado por la Unión Europea – NextGenerationEU

URL: <https://hdl.handle.net/10532/7985>

Año 2025

Autores: P. Irisarri, L. Castel, P. Errea, A. Pina

Departamento de Ciencia Vegetal

Promovido y financiado por

Iniciativa impulsada por:



Creado dentro del Plan Complementario de Agroalimentación AGROALNEXT en el marco del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia y financiado por la Unión Europea – NextGenerationEU

AGROALNEXT  **Plan de Recuperación,
Transformación
y Resiliencia**





Contenido

Contenido	3
Detección de la susceptibilidad/tolerancia al moteado en manzano	5
Introducción	5
Metodología	8
Resultados	10
Conclusiones	14
Bibliografía	15



Detección de la susceptibilidad/tolerancia al moteado en manzano

Introducción

La manzana es uno de los principales cultivos frutales en Europa y en España. Se trata de la especie más extendida en las zonas templadas europeas, con alrededor de 0,9 millones de hectáreas y una producción cercana a 17 millones de toneladas, y ocupa el segundo lugar en España, solo por detrás del melocotón, con aproximadamente 0,5 millones de toneladas según la FAO (www.fao.org). Este cultivo tiene un gran impacto económico y social, ya que genera empleo en zonas rurales y contribuye a la producción de frutas de calidad destinadas tanto al consumo fresco como a la industria.

Sin embargo, su productividad se ve seriamente amenazada por el moteado del manzano, causado por el hongo *Venturia inaequalis*, una de las enfermedades más relevantes a nivel mundial. La intensificación del moteado en los últimos años responde tanto a la alta vulnerabilidad de las variedades actualmente cultivadas como a la aparición de escenarios climáticos más favorables al patógeno, como periodos prolongados de humedad y temperaturas templadas durante las etapas iniciales del ciclo vegetativo. En las zonas productoras afectadas, la enfermedad provoca pérdidas económicas significativas, derivadas de la disminución del rendimiento y de la calidad del fruto, así como del aumento de los tratamientos fungicidas necesarios para su control, lo que subraya la necesidad de una gestión integrada de la protección vegetal (Höfer et al., 2022).

La incidencia del moteado se ve agravada por la escasa diversidad varietal del cultivo en España, donde alrededor del 90 % de la producción procede de solo cuatro grupos varietales ('Golden', 'Gala', 'Red Delicious' y 'Reineta'), siendo el Grupo Golden responsable de cerca de la mitad de la producción nacional (Iglesias y Alegre, 2014). En regiones como Aragón, donde conviven zonas de clima seco-cálido con áreas de montaña húmeda, esta enfermedad adquiere especial relevancia por su alta frecuencia e impacto.

Con el objetivo de reducir esta vulnerabilidad y preservar la diversidad genética, desde el año 2001 se iniciaron diferentes proyectos de investigación en el CITA de Aragón orientados a la recuperación de variedades tradicionales de manzano (Figura 1), muchas de ellas en riesgo de desaparición. Estas iniciativas han

permitido rescatar y caracterizar más de 100 genotipos locales, procedentes de antiguos huertos familiares. Estas variedades, bien adaptadas a sus condiciones agroclimáticas y capaces de sobrevivir durante años sin ningún tipo de cuidado, constituyen una valiosa fuente de resistencia natural frente a plagas y enfermedades. Su conservación y estudio representan una oportunidad estratégica para diversificar y reforzar el sistema productivo mediante la incorporación de nuevos genotipos en programas de mejora genética (Pina et al., 2014). Además, poseen un valor cultural y gastronómico, reforzando la importancia de su conservación y utilización en sistemas de producción sostenibles.



Figura 1. Imágenes representativas de cuatro variedades de manzano incluidas en el estudio, que ilustran la variabilidad fenotípica del fruto presente en el germoplasma local.



La incorporación de estos genotipos en programas de mejora genética podría desarrollar nuevas variedades con resistencia/tolerancia duradera al moteado, especialmente mediante la selección de combinaciones de genes de resistencia utilizando herramientas moleculares. Asimismo, el estudio de estas variedades locales ofrece la oportunidad de adaptar la producción a las condiciones mediterráneas, mucho más exigentes que las de las regiones del norte de Europa o América, de donde provienen la mayoría de las variedades comerciales resistentes o tolerantes actualmente disponibles (Belete y Boyraz, 2017).

En este contexto, el objetivo de este trabajo es identificar, dentro de este conjunto de variedades locales de diversidad genética conocida, genes de resistencia al moteado (*Venturia inaequalis*), con el fin de seleccionar aquellas accesiones que presenten las mejores combinaciones para ser utilizadas en el diseño de nuevos cruzamientos y en programas de mejora genética orientados a la resistencia. Esta estrategia permitirá aprovechar el potencial genético de las variedades tradicionales adaptadas a condiciones locales, contribuyendo al desarrollo de variedades de manzano más resistentes y sostenibles frente al moteado.

Metodología

En este estudio se han evaluado 9 variedades comerciales de referencia y 68 accesiones de manzano correspondientes a variedades tradicionales de antigua procedencia, prospectadas en diversas zonas de montaña de Aragón con características eco-geográficas distintas, incluyendo tanto el Sistema Ibérico como los Pirineos (Pina et al., 2014; Pereira et al., 2017). Este material ha sido cuidadosamente conservado en las colecciones del CITA en Zaragoza y en Bescós de la Garcipollera (Jaca, a 930 m de altitud), asegurando la preservación de su valioso patrimonio genético y su disponibilidad para estudios de mejora y conservación.

Para la evaluación fenotípica, se realizó un análisis de hojas y frutos con el objetivo de determinar la respuesta de cada accesión frente al moteado del manzano (*Venturia inaequalis*). La evaluación de campo se realizó bajo infección natural en campo durante 2022 y 2023, y las accesiones se clasificaron en cuatro categorías de susceptibilidad (0: no sensible, 1: poco sensible, 2: sensible, 3: muy sensible), basándose en la observación visual de los síntomas de moteado en hojas de toda la copa y en los frutos registrando la presencia o ausencia de síntomas (Figura2). Se muestrearon entre 20-50 hojas por árbol y se hizo una evaluación visual del porcentaje de superficie afectada.



Figura 2. Imágenes de los síntomas en hoja y fruto para la evaluación fenotípica.



Por otro lado, para la caracterización molecular, se procedió a la extracción de ADN siguiendo el protocolo estándar de CTAB. Se utilizaron marcadores moleculares específicos asociados a diferentes fuentes de resistencia al moteado, incluyendo los genes Rvi2, Rvi4, Rvi6 y Rvi11, previamente descritos en la literatura (Tabla 1). La separación y visualización de las bandas se llevó a cabo mediante electroforesis en geles de agarosa. Los tamaños de los fragmentos vinculados a los genes de resistencia se compararon con los obtenidos en los genotipos de control.

Tabla 1. Marcadores moleculares descritos en la bibliografía para la identificación de genes de resistencia al moteado en manzano.

Gen detectado	Nombre marcador	Tipo PCR	Tamaño (bp)	Referencias
Rvi2	OPL 19	SCAR	433	Bus et al. 2005
Rvi4	AD13	SCAR	950	Boudichevskaia et al. 2006
Rvi11	SCAR a+b	SCAR a+b	743	Gygax et al. 2004
Rvi6	VfT F+R	SCAR	466	Tartarini et al. 1999

Resultados

En la actualidad, existen más de 150 variedades de manzano resistentes o tolerantes al moteado disponibles en el mercado; sin embargo, la mayoría de estas fueron obtenidas en el norte de Europa o América (Belete y Boyraz, 2017), regiones con condiciones climáticas muy diferentes a las del área mediterránea. Por ello, resulta fundamental evaluar y caracterizar los recursos genéticos locales frente a la resistencia al moteado, ya que representan una oportunidad para identificar genotipos resistentes adaptados a nuestras condiciones de cultivo.

Para la evaluación fenotípica, se llevó a cabo un seguimiento de campo durante 2022 y 2023. Las accesiones fueron clasificadas en cuatro categorías de susceptibilidad, basándose en una observación visual en las hojas y en los frutos, registrando la presencia o ausencia de síntomas. Esta evaluación permitió identificar accesiones sin síntomas, baja, media y alta susceptibilidad. En Tabla 2 se presentan los porcentajes de accesiones locales infectadas en cada año y la media de infección para cada tipo de susceptibilidad.

Tabla 2. Porcentaje de accesiones locales de manzano infectadas por moteado (*Venturia inaequalis*) durante 2022 y 2023, según las cuatro categorías de susceptibilidad. Se incluye la media de infección para cada categoría.

			% accesiones locales infectadas		
Escala	Susceptibilidad	Síntomas	2022	2023	Media
0	Sin infección	Sin síntomas macroscópicos visibles.	4,4	3,6	4,0
1	Baja	Pocas lesiones visibles, con síntomas leves.	30,9	43,4	37,1
2	Media	Numerosas lesiones extendidas por gran parte del árbol.	38,2	44,6	41,4
3	Alta	Infección grave con la mitad de las hojas infectadas por múltiples lesiones.	26,5	8,4	17,5

Los resultados de este trabajo mostraron diferencias significativas en el nivel de infección en campo durante 2022 y 2023 (Tabla 2), años en los que se registraron distintas variables agroclimáticas en la zona de estudio (Figura 3). En 2022, la incidencia de la enfermedad fue mayor, con 35 % de accesiones no sensibles o poco sensibles (nivel 1-2) y 65 % sensibles o muy sensibles (niveles 2-3). En 2023 el 47% de las accesiones locales presentaron un nivel de infección menor a 2 en la escala, mientras que el 53% alcanzó niveles 2 o 3. El promedio de los dos años mostró que 4 % de las accesiones no presentaron síntomas, 37.1% fueron poco sensibles, 41.4 % sensibles y 17.5 % muy sensibles.

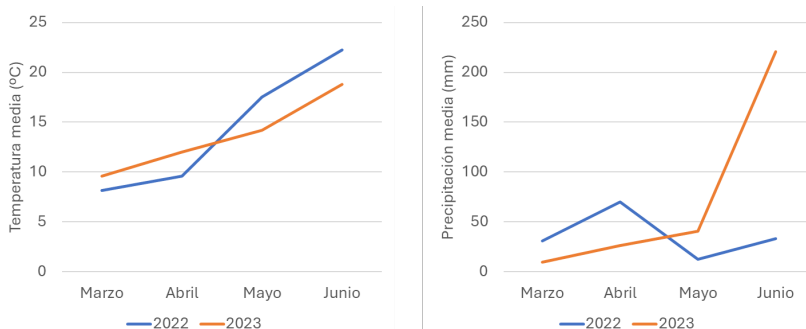


Figura 3. Variables agroclimáticas medias mensuales (temperatura y precipitación) registradas en la estación meteorológica ID22 (Santa Cilia de Jaca) del Sistema de Información Agroclimática para el Regadío (SiAR). La mayor incidencia de moteado en 2022 coincidió con valores más altos de humedad y precipitación durante los meses de marzo y abril.

El porcentaje de superficie foliar afectada varió notablemente entre accesiones, desde 4,4 % en 'Moncayo-01' hasta 23,9 % en 'Escoáin-03'. Estos resultados subrayan la importancia de evaluar la resistencia natural de material autóctono frente a enfermedades como el moteado, aportando información clave para su selección y utilización en programas de mejora genética.

En cuanto a la caracterización molecular se emplearon marcadores moleculares asociados a los genes de resistencia Rvi2, Rvi4, Rvi6 y Rvi11, previamente descritos. Los fragmentos amplificados correspondieron a 433 bp (Rvi2), 950 bp (Rvi4), 466 bp (Rvi6/Vf) y 743 bp (Rvi11) (Figura 4). El gen Rvi2 se detectó en el 56 % de las accesiones locales y en el 44 % de las variedades de referencia, mientras que Rvi11 estuvo presente en el 68 % de las accesiones locales frente al 44 % de las comerciales. El marcador Rvi4 amplificó tres alelos: a = 1300 bp, b = 1100 bp y c = 950 bp (alelo de resistencia), siendo que la mayoría de las accesiones locales contenían los alelos a y b, y solo un 7 % presentó el alelo de resistencia. Por su parte, el gen Rvi6 se amplificó únicamente en las variedades de referencia ‘Story’, ‘Prima’ y ‘Florina’.

En cuanto a combinaciones de genes, tres accesiones locales presentaron simultáneamente Rvi2, Rvi4 y Rvi11; 22 contenían Rvi2 y Rvi11; y cuatro combinaban Rvi4 y Rvi11. El disponer de varias fuentes de resistencia al moteado permite utilizarlas como reposición en el caso de que se rompa la resistencia (como ha sucedido con la resistencia monogénica conferida por el gen Vf/Vi6) o incorporar más de una en una misma variedad (genes piramidales para que la resistencia sea duradera en el tiempo).

La integración de los datos fenotípicos y moleculares ha permitido, por primera vez, identificar fuentes de resistencia en variedades recuperadas de zonas de montaña, y abre la posibilidad de seleccionar accesiones con las mejores combinaciones de genes, susceptibles de ser utilizadas en el diseño de nuevos cruzamientos. Actualmente, se está evaluando la correlación entre la presencia de estos marcadores moleculares y la resistencia natural observada en campo, para validar la eficacia de estas fuentes de resistencia.

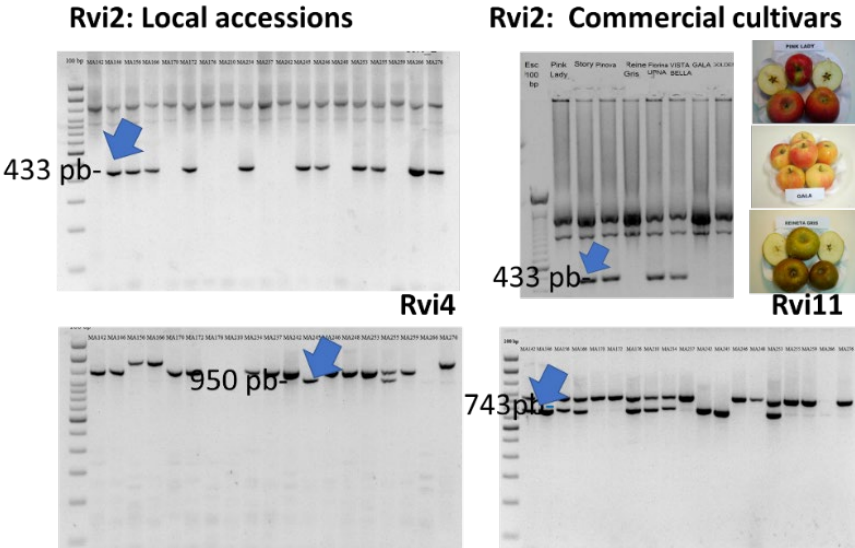


Figura 4. Amplificación por PCR de los genes de resistencia al moteado (*Venturia inaequalis*) en accesiones locales de manzano y de referencia. Se muestran los fragmentos correspondientes a Rvi2, Rvi4, y Rvi11, visualizados en gel de agarosa. Cada línea representa una accesión evaluada, mostrando la presencia o ausencia de los alelos de resistencia.

Conclusiones

1. Las variedades locales de manzano evaluadas mostraron diferencias claras en su susceptibilidad al moteado, desde accesiones altamente resistentes hasta muy susceptibles, evidenciando la existencia de resistencia natural en el germoplasma local.
2. La incidencia de la enfermedad estuvo influida por las condiciones agroclimáticas, siendo mayor en 2022, cuando la humedad y la precipitación fueron más altas durante los meses críticos del ciclo vegetativo.
3. Los análisis moleculares identificaron los genes de resistencia Rvi2, Rvi4, Rvi6 y Rvi11, encontrándose combinaciones múltiples que permiten la piramidación de genes y una resistencia más duradera frente a fallos de resistencia monogénica.
4. Las variedades locales recuperadas de zonas de montaña representan un recurso estratégico, adaptado a condiciones mediterráneas, que permite diversificar y reforzar la producción de manzano frente al moteado, asegurando sostenibilidad y resistencia a largo plazo.



Bibliografía

- Belete T, Boyraz N. 2017. Critical Review on Apple Scab (*Venturia inaequalis*) Biology, Epidemiology, Economic Importance, Management and Defense Mechanisms to the Causal Agent. *J Plant Physiol Pathol* 5:2.
- Boudichevskaia, A., Flachowsky, H., Peil, A., Fischer, C., Dunemann, F. 2006. Development of a multiallelic SCAR marker for the scab resistance gene Vr1/Vh4/Vx from R12740-7A apple and its utility for molecular breeding, *Tree Genetics & Genomes*, 2:186-195.
- Bus, V.G.M., Rikkerink, E.H.A., Van de Weg, W.E., Rusholme, R.L., Gardiner, S.E., Bassett, H.C.M., Kodde, L.P., Parisi, L., Laurens, F.N.D., Meulenbroek E.J., Plummer J.M. 2005. The Vh2 and Vh4 scab resistance genes in two differential hosts derived from Russian apple R12740-7A map to the same linkage group of apple. *Molecular Breeding* 15: 103–116.
- Gygax, M., Gianfranceschi, L., Liebhard, R., Kellerhals, M., Gessler, C., Patocchi A. 2004. Molecular markers linked to the apple scab resistance gene VbJ derived from *Malus baccata* jackii Theor Appl Genet 109: 1702–1709.
- Höfer, M.; Flachowsky, H.; Schröpfer, S.; Peil, A. Evaluation of Scab and Mildew Resistance in the Gene Bank Collection of Apples in Dresden-Pillnitz. *Plants* 2021, 10, 1227. <https://doi.org/10.3390/plants10061227>
- Iglesias I, Alegre, S. (2014). Manzano. In C. C. Rural (Ed.), *La fruticultura del siglo XXI en España* (pp. 27–55). <http://www.publicacionescajamar.es/seriestematicas/agricultura/la-fruticultura-del-siglo-xxi-en-espana>
- Pina, P., Urrestrazu, J., Errea, P. 2014. Analysis of the genetic diversity of local apple cultivars from mountainous areas from Aragon (Northeastern Spain). *Scientia Horti*. 174: 1–9
- Pereira, S., Urrestrazu, J., Ramos, A., Miranda, C., Pina, A., et al. 2017. Analysis of the genetic diversity and structure of the Spanish apple genetic resources suggests the existence of an Iberian gene pool. *Ann. Applied Biology*, 171(3): 424-440. DOI:10.1111/aab.12385
- Tartarini, S., Gianfranceschi, L., Sansavini, S. and Gessler C. 1999. Development of reliable PCR markers for the selection of the Vf gene conferring scab resistance in apple. *Plant Breed* 118: 183-186.



Creado dentro del Plan Complementario de Agroalimentación AGROALNEXT en el marco del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia y financiado por la Unión Europea – NextGenerationEU

