

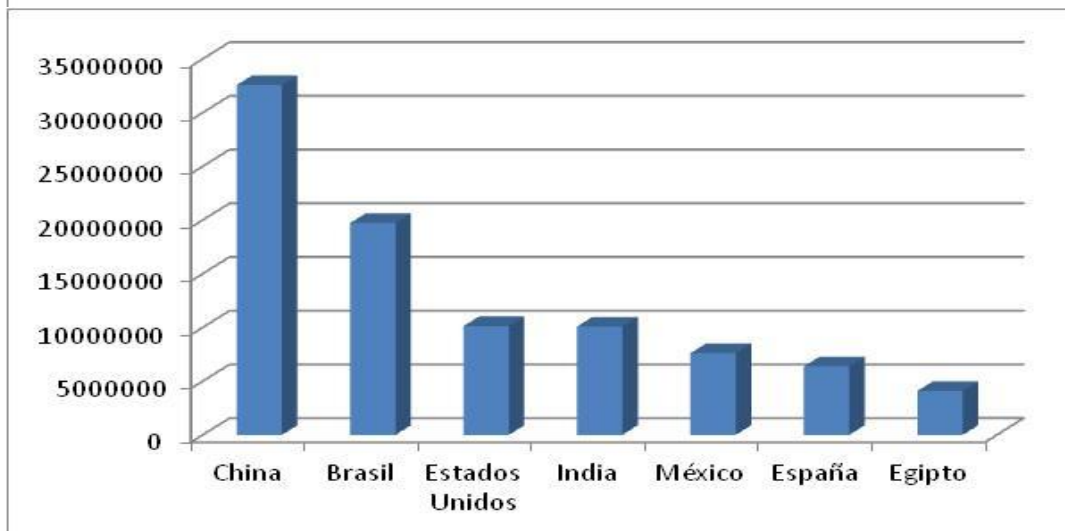
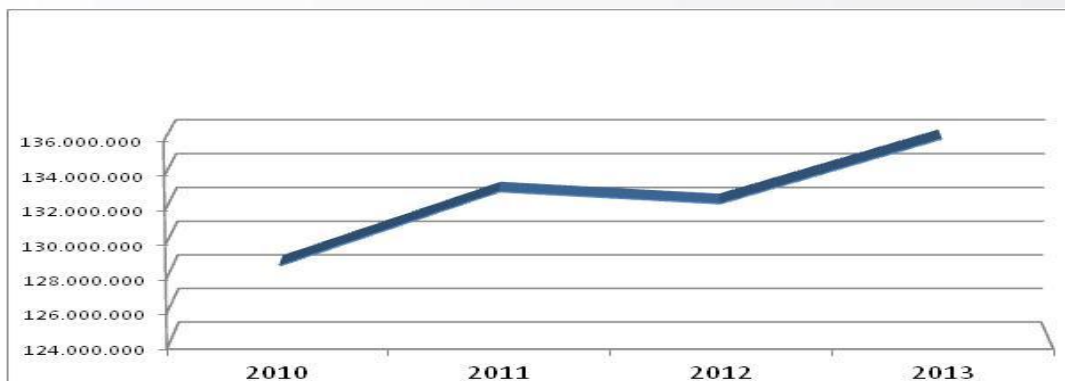


Cítricos: proyecto CITRUSEQ-CITRUSEGENN

Zaragoza, 19 de mayo 2016

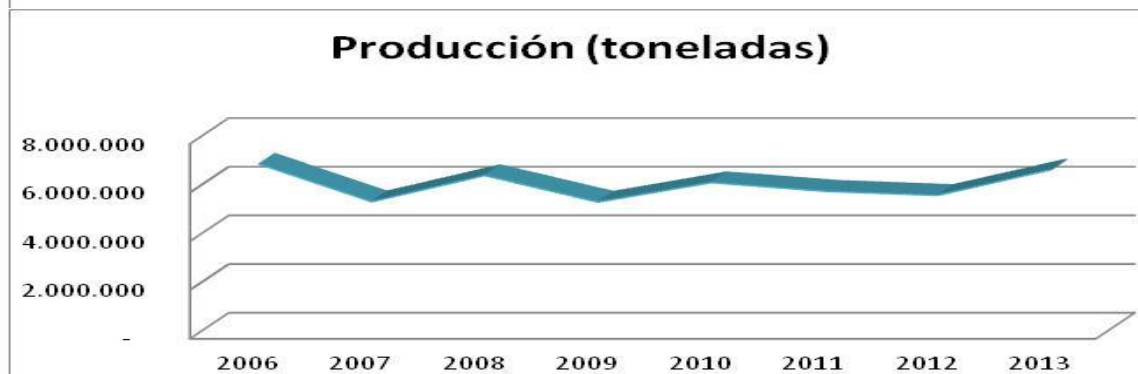
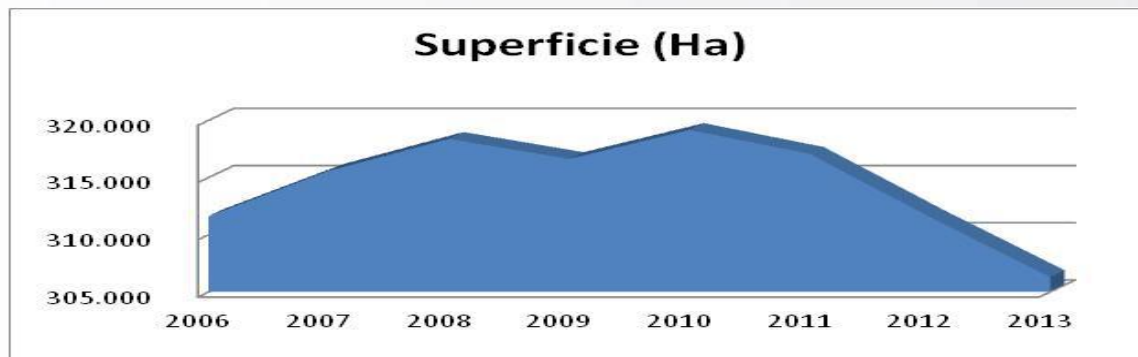
Situación citrícola

- La producción mundial asciende a más 130.000.000 t.
- España es el sexto país productor.



Situación citrícola

- La superficie de cítricos española asciende a más de 300.000 ha
- En España se producen aproximadamente unos 6 millones de toneladas.



Situación citrícola

Somos el primer exportador con 3.614.199t (FEPEX)

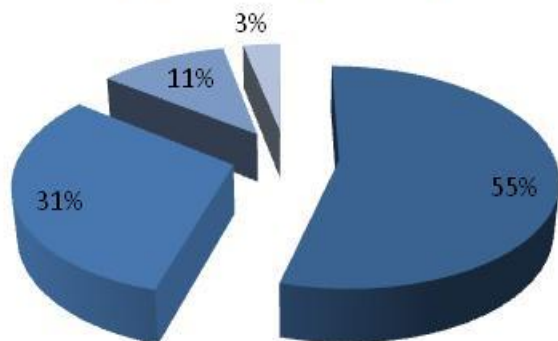


PRINCIPALES ZONAS PRODUCTORAS

CAMPAÑA 2013 - 2014

Producción (tn) 2013

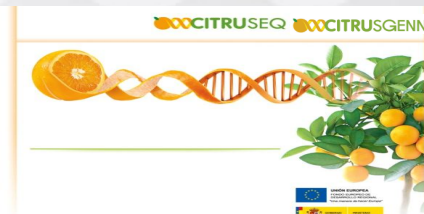
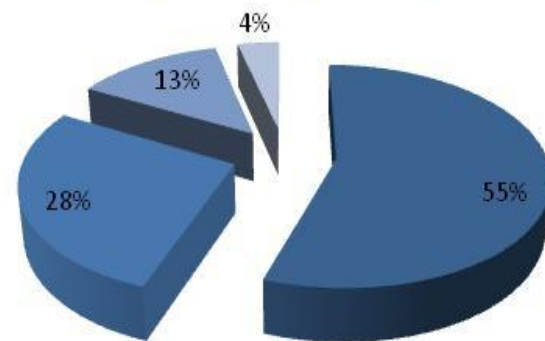
■ C.Valenciana ■ Andalucía ■ Murcia ■ Resto España



CAMPAÑA 2014 - 2015

Producción (tn) 2014

■ C.Valenciana ■ Andalucía ■ Murcia ■ Resto España



Problemática y justificación

- Una de las claves de éxito de la citricultura española se relaciona directamente con la disponibilidad de nuevas variedades élite de cítricos.
- La carencia de un procedimiento de identificación y autenticación de las variedades obstaculiza el desarrollo armónico de una planificación varietal lógica y sensata.
- La mejora de los cítricos está muy mermada por distintos condicionantes de la biología de los cítricos.
- El desarrollo de la genómica puede permitir un avance considerable de las técnicas de mejora y de identificación.



Consorcio CITRUSEQ-CITRUSGENN

- Formado por instituciones públicas y privadas.
- Ha desarrollado dos proyectos que integran un conjunto de actividades que ha conseguido herramientas genómicas y biotecnológicas para facilitar la generación y selección de nuevas líneas y variedades de cítricos de potencial interés comercial y generando nuevo conocimiento biotecnológico para agilizar los programas de mejora de cítricos.
- Ambos proyectos fueron apoyados por el MINECO a través de su Programa Nacional de Ayudas de Cooperación Público - Privada.



Consorcio CITRUSEQ-CITRUSGENN

- Los resultados de estos proyectos han constituido un hito en el ámbito de las relaciones biotecnología - agricultura.
- Estos proyectos abren unas posibilidades hasta ahora insospechadas en el campo de la colaboración del sector citrícola con los equipos de investigación de cítricos.
- Los nuevos retos de la citricultura española requieren sin duda la contribución del conocimiento de las nuevas tecnologías como la genómica.



Socios

 CITRUSEQ  CITRUSGENN



ANECOOP

 GCM
Variedades Vegetales
growing customer markets

 ivia
instituto valenciano
de investigaciones agrarias



PRINCIPE FELIPE
CENTRO DE INVESTIGACION



ICCSA
INVESTIGACIÓN CÍTRICA
CASTELLÓN S.A.

 citrus genesis

 FUNDACIÓN
cajamar
COMUNIDAD
VALENCIANA

 IRNAS  CSIC
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

 Eurosemillas



www.citruseq.es
www.citrusgenn.es

Presupuestos

	Presup. Financiable	Subvención	Préstamo	Anticipo
CITRUSEQ	1.654.809,66	288.860,51	434.593,50	609.700,00
CITRUSGENN	2.098.092,29	379.928,98	1.399.300,00	244.165,00
TOTAL	3.752.901,95	668.789,49	1.833.893,50	853.865,00

	Entidades públicas	Empresa privada
CITRUSEQ	898.560,51	756.249,15
CITRUSGENN	624.093,98	1.473.998,31
TOTAL	1.522.654,49	2.230.247,46



Socios



Empresa cooperativa líder en la comercialización de productos hortofrutícolas formada por un centenar de cooperativas de diversas comunidades autónomas.



Empresa líder en innovación vegetal cuya vocación es trabajar junto a expertos de reconocido prestigio para ofrecer nuevos modelos de desarrollo agroalimentario sostenible, a empresas agrícolas tradicionales.



PRINCIPE FELIPE
CENTRO DE INVESTIGACION

El CIPF posee uno de los grupos de investigación en bioinformática más grandes de España. Está constituido por tres unidades, genómica funcional, genómica comparativa y de genómica estructural.



GCM Variedades Vegetales A.I.E, se constituye como empresa de I+D que pretende cubrir un área de investigación en cítricos que hasta el momento estaba desierta por el sector privado. GCM se crea para facilitar el desarrollo o mejorar los resultados de la actividad de sus socios (Giner, Cañamás, Marti Navarro).



ICC, SA en una empresa constituida por un grupo de exportadores y cooperativas pertenecientes a la Asociación Profesional de Exportadores de Frutos de la Provincia de Castellón (ASOCIEX) cuyo objetivo es atender las necesidades de I+D+i de las empresas asociadas.



Empresa especializada en el desarrollo y la comercialización de nuevas variedades de cítricos. Con sedes en Inglaterra (SNFL Ltd) y en España (SNFL – Source Citrus Genesis S.L) y copropietaria de Sheehan Genetics LLC en California y Vitis Ltd en Sud África. Pertenece al grupo Antonio Muñoz.



Centro propio del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, que desarrolla actividades científicas básicas y aplicadas que persiguen la optimización del uso y conservación de los recursos naturales del suelo, agua y planta.



Consta de un Equipo implicado en la generación, caracterización fenotípica y análisis transcriptómico de mutantes de clementina, genotipos poliploides y variedades de cítricos.



Fundación que trabaja por atender necesidades sociales a través de la realización de actividades dirigidas a todos los segmentos de la población, incluyendo los agricultores y empresas agroalimentarias.



Objetivos

- Obtención y evaluación de nuevas líneas de cítricos.
- Determinación de variantes génicas en genes relacionados con la calidad y la productividad de los cítricos.
- Caracterización de rutas metabólicas determinantes de la calidad del fruto.

 CITRUSEQ  CITRUSGENN



Objetivos

- Obtención de marcadores moleculares y desarrollo de tecnologías para la autenticación de variedades.
- Análisis bioinformático de los datos genómicos y fenotípicos.
- Proceder a la difusión de estos resultados a las entidades del sector cítrico.

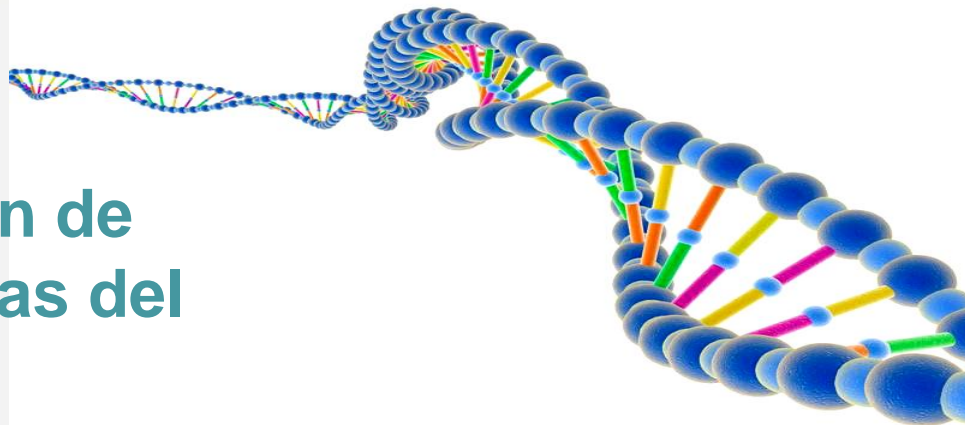


 CITRUSEQ  CITRUSGENN



Objetivos

Objetivo 1. Secuenciación de variedades representativas del género Citrus y afines



- El objetivo era secuenciar los genomas de especies, patrones y variedades de cítricos con el propósito de dilucidar su estructura e identificar las variantes de estos genomas.
- La secuenciación parcial del genoma de los cítricos generará un elevado número de variantes que probablemente podrá permitir la identificación de genes relacionados con la productividad y la calidad de la fruta.
- Se ha logrado la obtención de 250 secuencias genómicas.



Origen de los cítricos

Especies fundacionales

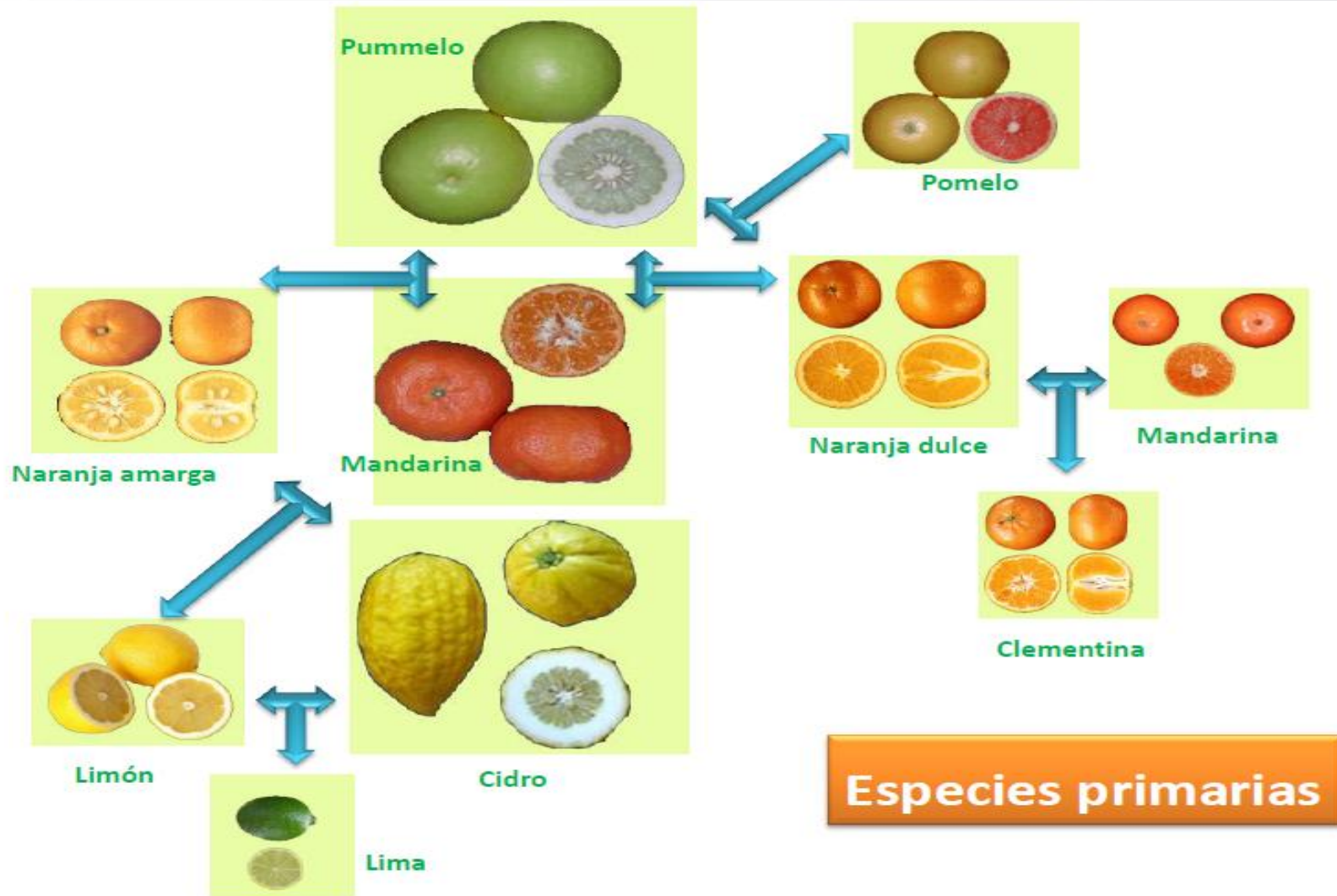
C. medica
Citron



C. maxima
Pummelo

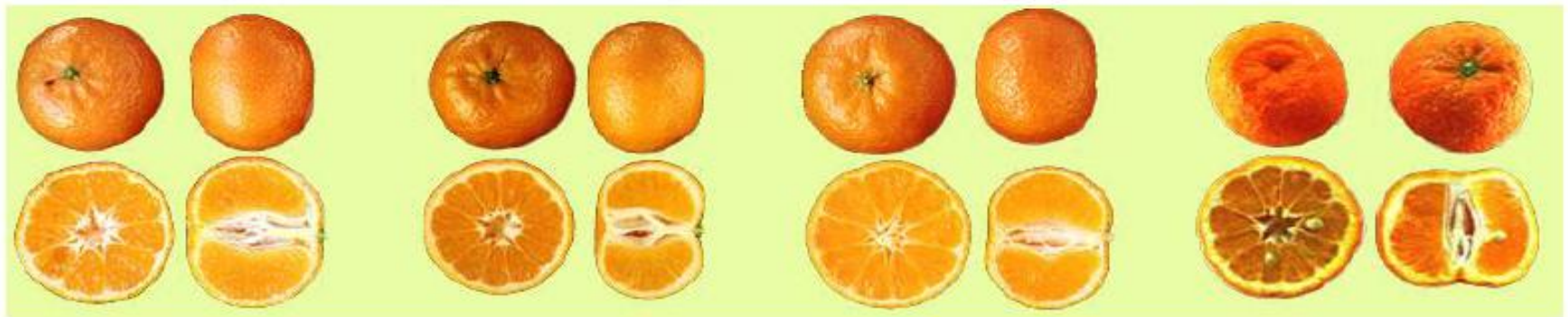


C. Reticulata
Mandarina



Secuenciación del genoma de las principales especies y variedades de Citrus

Variedades comerciales : CLEMENTINAS, (*C. clementina*)

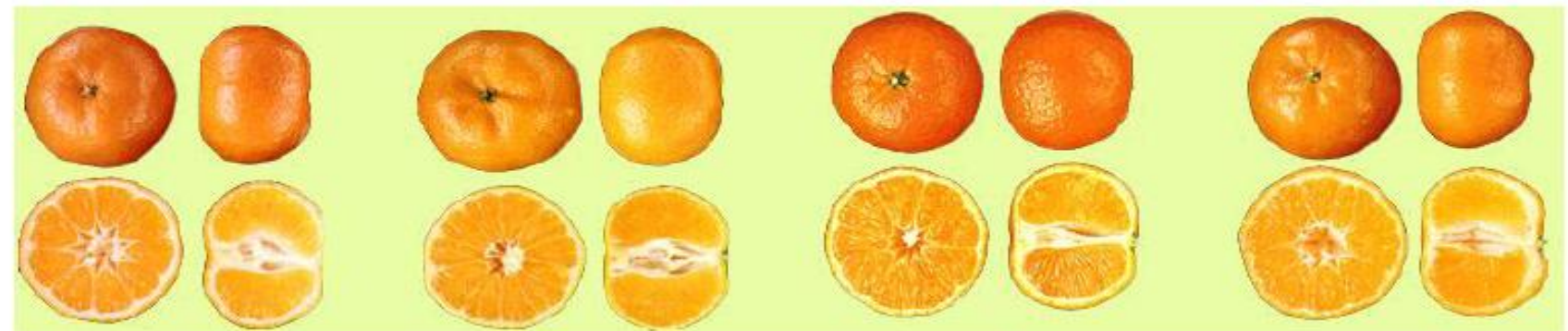


Fina

Clemenules

Hernandina

Caffin



Oroval

Arrufatina

Oronules

Marisol

Familia de la Fina

Mutaciones espontáneas



Clemenules



Hernandina



Esbal



Oronules



Clementard



Oroval



Arrufatina



Clemenpons



Prenules



Clemenrubí



Basol



Orogros



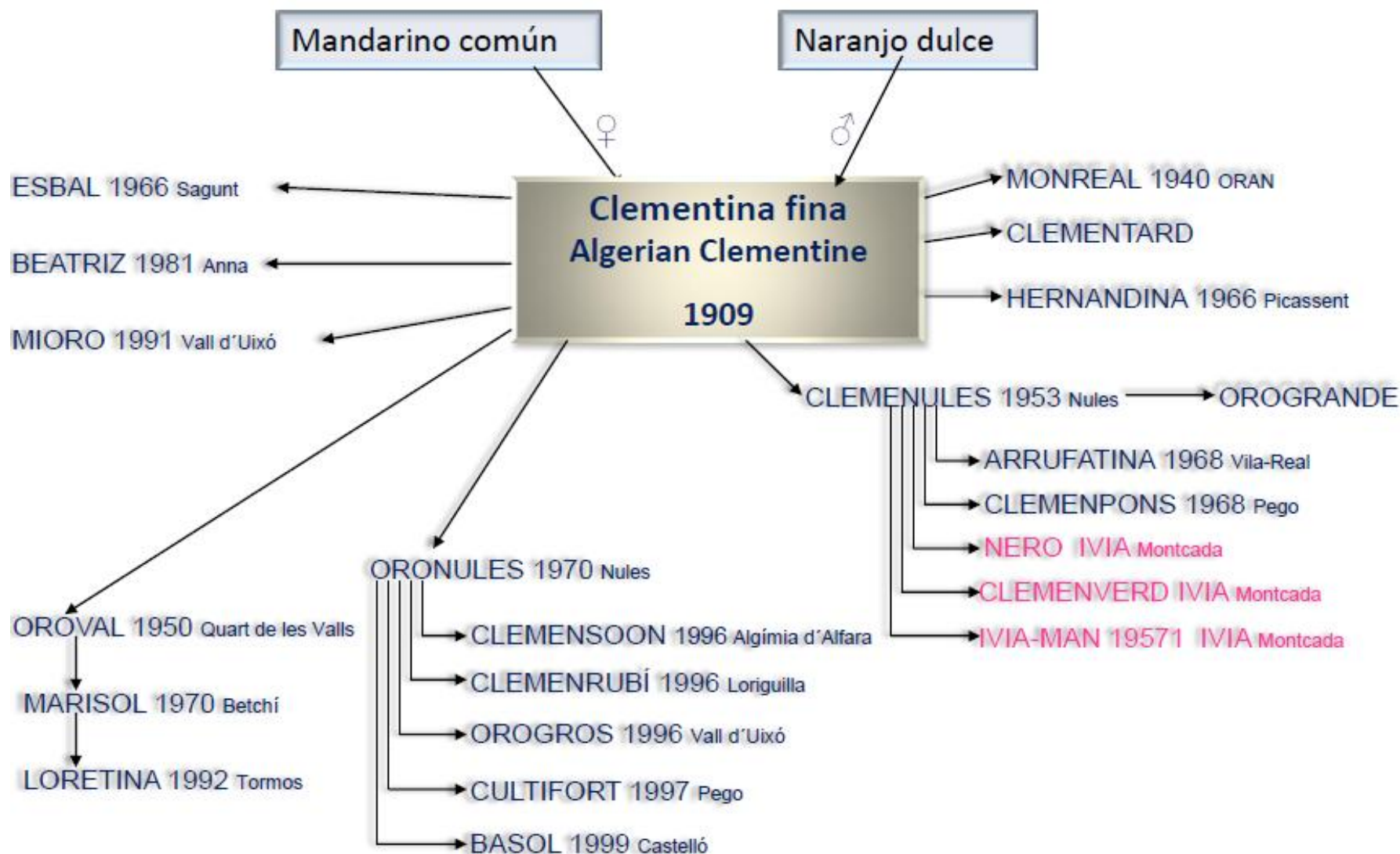
Marisol



Loretina

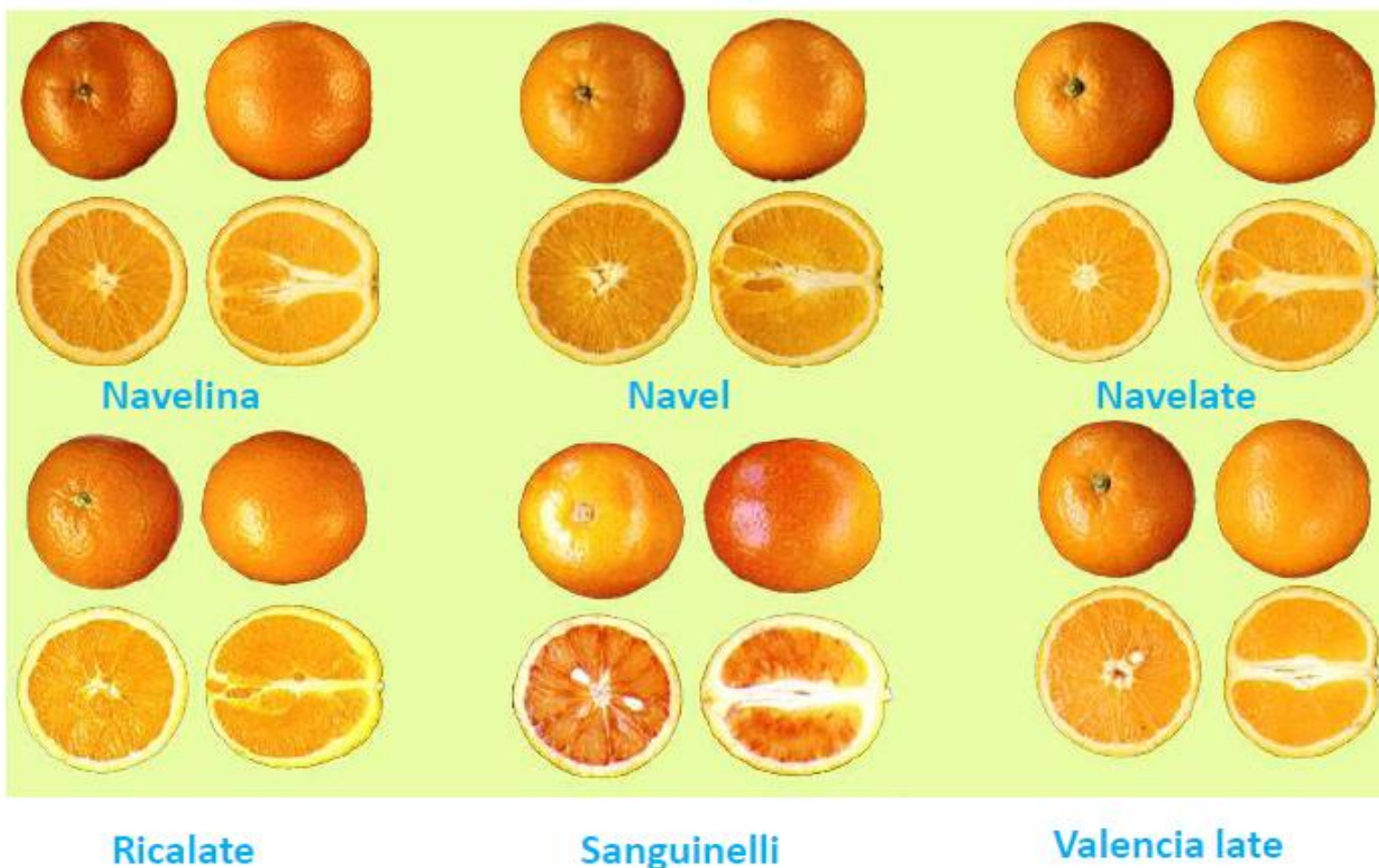


Filogenia de las clementinas *Citrus clementina* Hort. ex Tan.

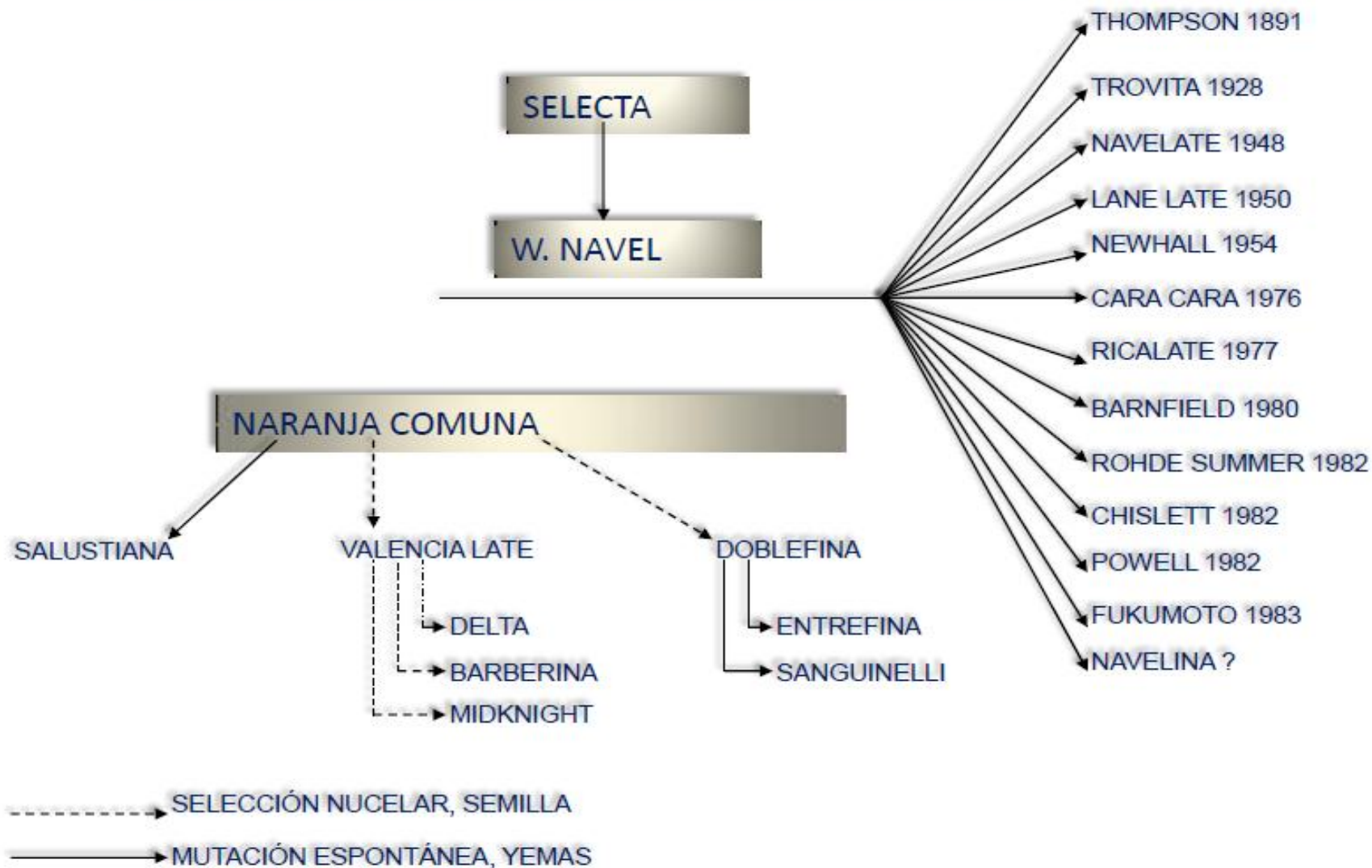


Secuenciación del genoma de las principales especies y variedades de Citrus

Variedades comerciales : NARANJAS, (*C. sinensis*)

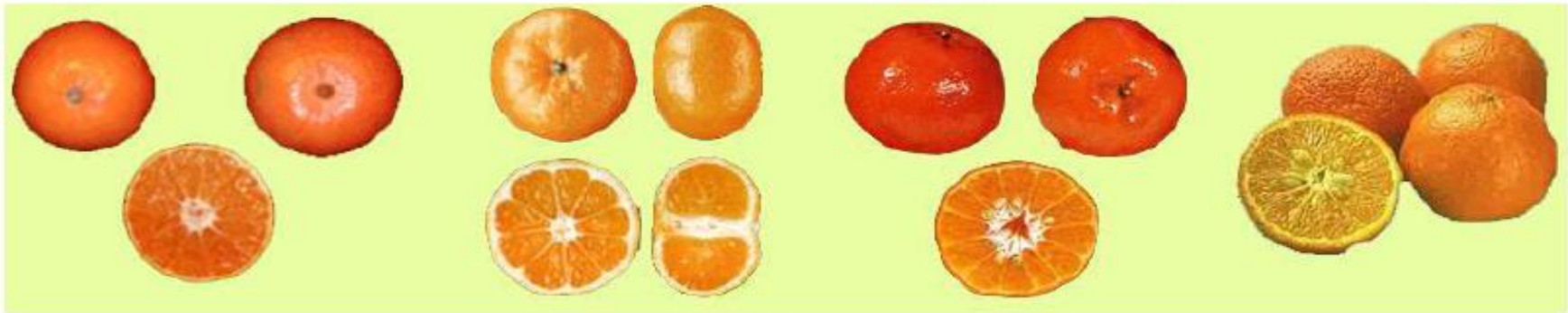


Filogenia de las naranjas *Citrus sinensis* (L.) Osb.



Secuenciación del genoma de las principales especies y variedades de Citrus

Variedades comerciales : MANDARINAS



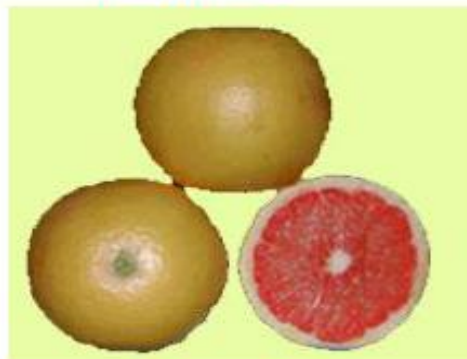
C. reticulata
Mandarina

C. unshiu
Satsuma owari

C. tangerina
Dancy

C. nobilis
King

POMELOS



C. Paradisi
Pomelo

LIMAS



C. aurantifolia
Lima

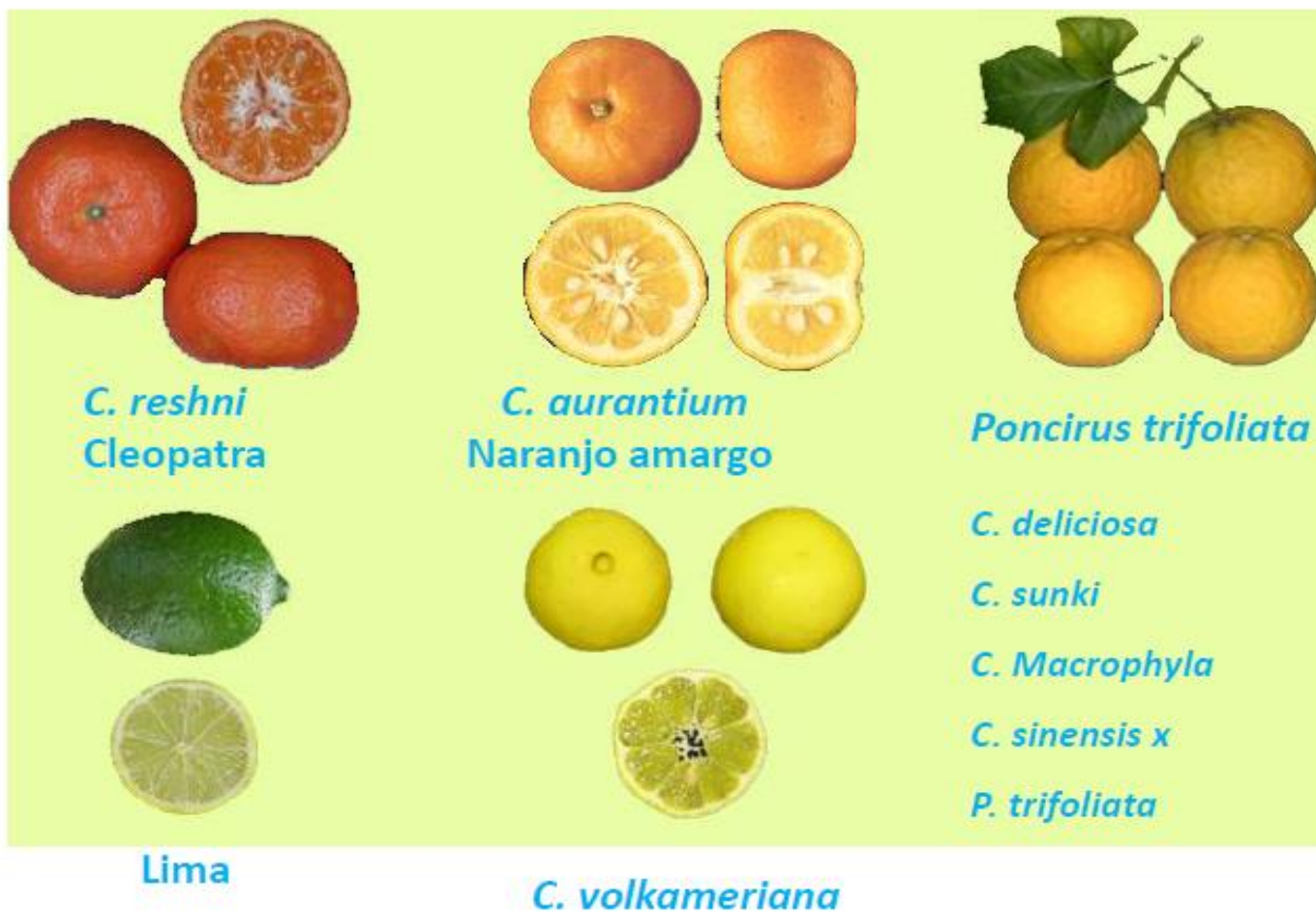
LIMONES



C. limon
Limón

Secuenciación del genoma de las principales especies y variedades de Citrus

Patrones comerciales



Secuenciación del genoma de las principales especies y variedades de Citrus

Especies exóticas



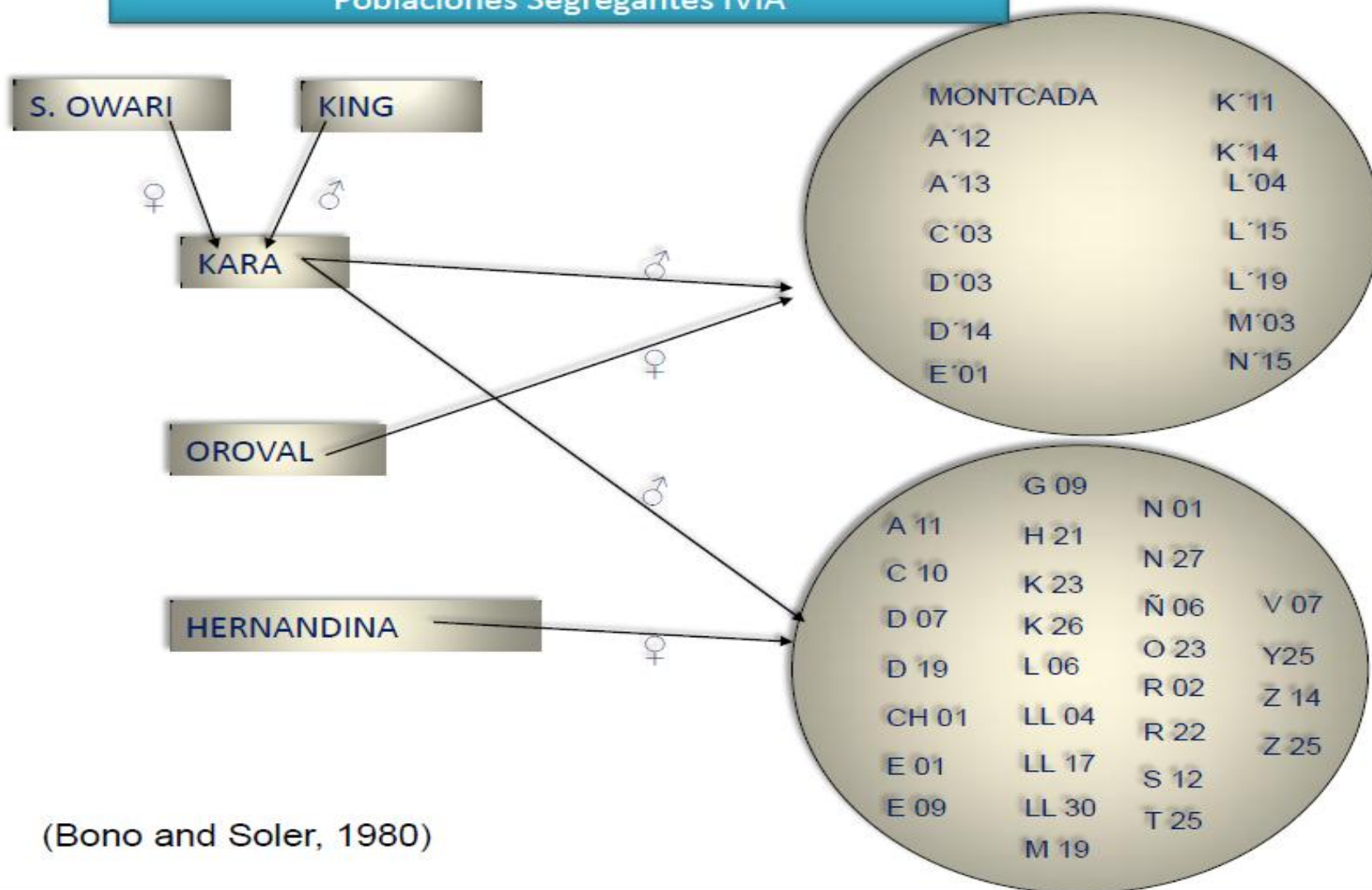
*Citrus
micrantha*

*Eremocitrus
glauca*

*Microcitrus
australasica*

*Fortunella
japonica*

Poblaciones Segregantes IVIA



(Bono and Soler, 1980)

Objetivos

Objetivo 2. Desarrollo de una plataforma bioinformática para la integración, análisis y almacenamiento de datos genómicos en cítricos.

- Se desea ofrecer al consorcio una infraestructura tecnológica adecuada para el almacenaje, procesamiento y extracción de conocimiento del conjunto de los datos.
- Se han desarrollado herramientas bioinformáticas con las que se llevarán a cabo análisis integrativos de los diferentes tipos de datos.



Aplicaciones biotecnológicas al sector cítrico:

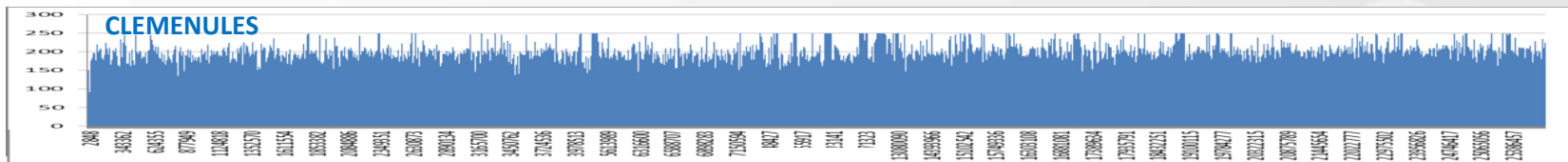
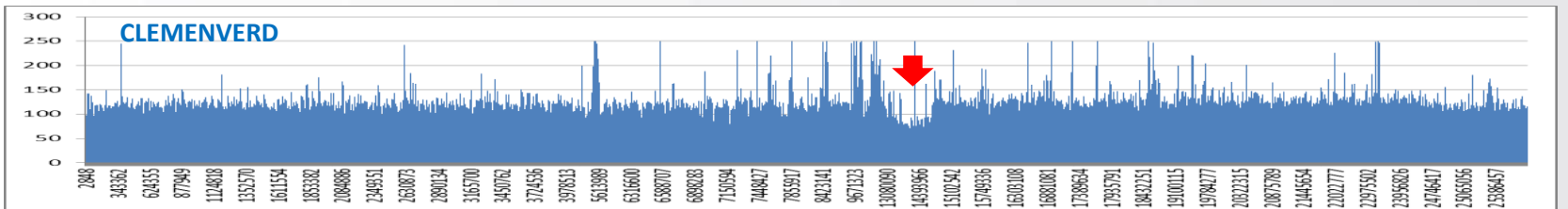
- Se han desarrollado protocolos basados en la secuenciación genómica para la **autenticación de variedades**.



CLEMENULES



CLEMENVERD



Chr 4

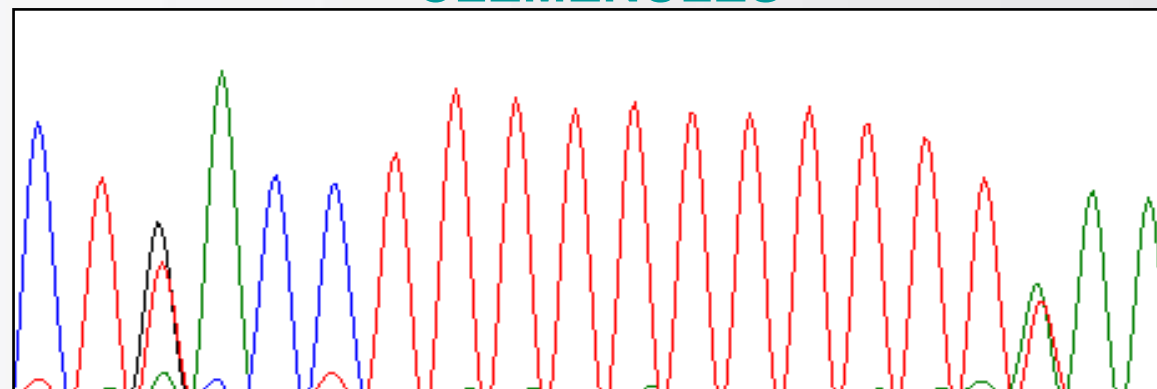
Aplicaciones biotecnológicas al sector cítrico:

- Se han generado **sets de marcadores** moleculares de variedades en base a la información proporcionada por el análisis de secuenciación.





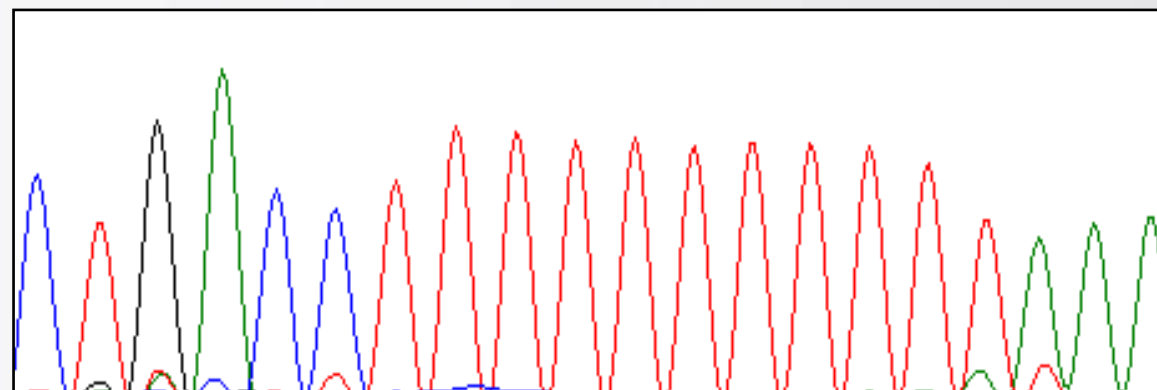
CLEMENULES



CT**T**ACCTTTT**T**TTT**T**TT**G**AA



TARDIA



CT**G**ACCTTTT**T**TTT**A**AA

Objetivos

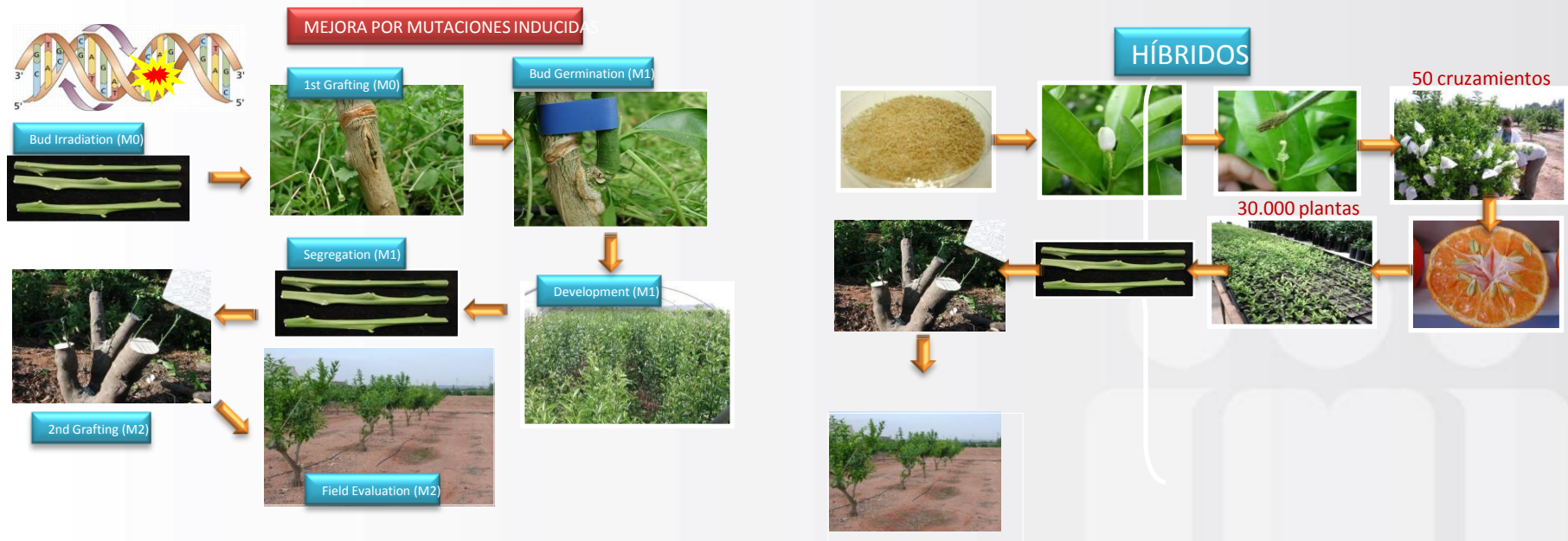
Objetivo 3. Identificación de genes candidatos para la mejora de la calidad, de la producción y de la tolerancia a estreses medioambientales

- Se ha avanzado en la identificación de genes, de alelos y de familias génicas responsables de los caracteres de calidad del fruto asociados al crecimiento y desarrollo, de la producción final y de la tolerancia a los estreses abióticos.
- Se han utilizado estos datos del análisis metabolómico junto con datos derivados del análisis transcriptómico para identificar procesos metabólicos que se activan y se reprimen durante la maduración.



Objetivo 4. Generación y autenticación de material vegetal de cítricos

- Objetivo importante que se centra en generar nuevas líneas de cítricos que tengan posibilidades de convertirse en variedades comerciales.
- Se ha generado un mínimo de **14.000 nuevas líneas de cítricos** obtenidas por irradiación e hibridación.





Material irradiado



Cítricos: proyecto CITRUSEQ-CITRUSGENN

Zaragoza, 19 de mayo 2016



Material hibridado



Conclusiones

- Se han obtenido 250 secuencias del genoma de cítricos. Para ello se han secuenciado alrededor de **250** variedades de distintos cítricos. Algunas de las variedades se ha duplicado su secuenciación para poder observar variaciones biológicas y técnicas y dar fiabilidad a los datos obtenidos.
- Se han obtenido transcriptomas de variedades representativas de la citricultura española, como la Clementina. Estos datos aumentarán el conocimiento de la regulación de los genes de interés agronómico.
- Se han obtenido listados de genes relacionados con los mecanismos implicados en la calidad de la fruta, sentando las bases moleculares para nuevos métodos en la mejora y obtención de especies de cítricos.
- Se han obtenido listados de genes relacionados con los mecanismos implicados en la tolerancia/resistencia a los estreses medioambientales.

Conclusiones

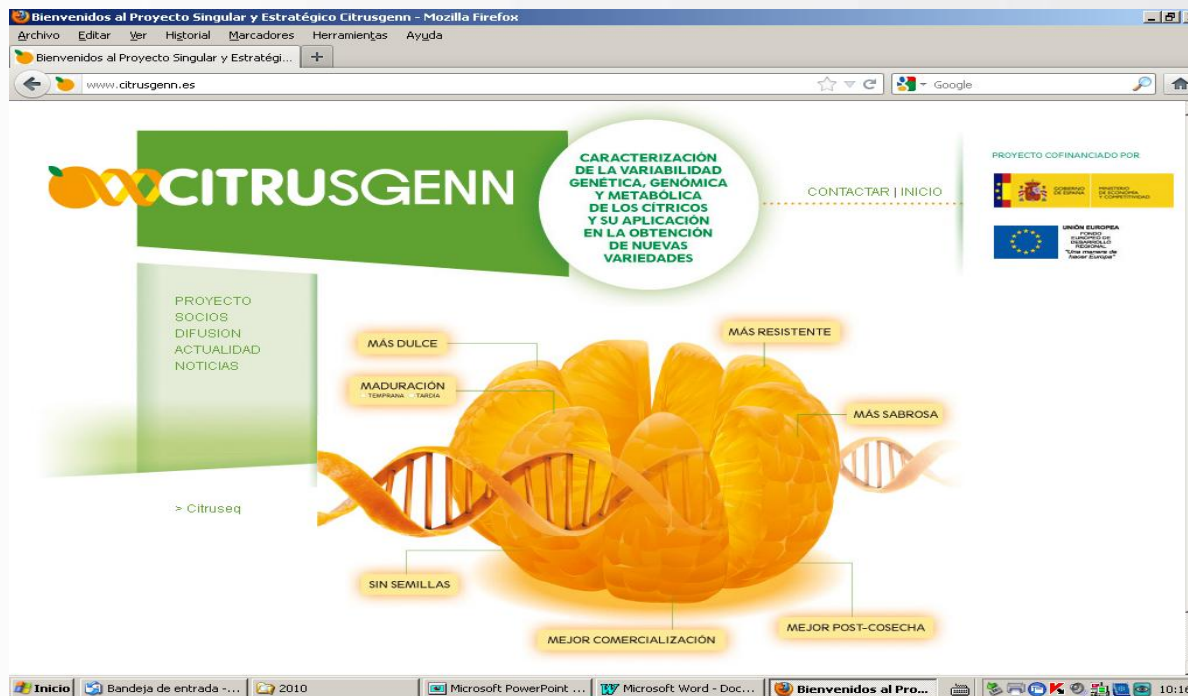
- Se ha generado 14000 nuevas líneas de cítricos obtenidas por irradiación e hibridación.
- Se dispone de una base de datos donde se han almacenado las secuencias de las variedades analizadas en este proyecto.
- Se han generado 6 sets de marcadores moleculares de 6 variedades comerciales en base a la información proporcionada por la literatura, la caracterización de genes candidatos, las determinaciones metabolómicas y el análisis de secuenciación.
- Se están desarrollando protocolos para la autenticación de las variedades obtenidas a lo largo del presente proyecto mediante mutaciones inducidas y mediante hibridación y extender estos protocolos a las variedades comerciales resultantes de mutaciones espontáneas o ya existentes.

Difusión

➤ Diseño y edición de trípticos divulgativos



➤ Diseño y puesta en marcha de una página web : www.citrusgenn.es



IX Congrés Citrícola l'Horta Sud



Comunicaciones: notas de prensa

http://www.freshplaza.es/news_detail.asp?id=34966

<http://www.atcitrus.com/noticia.asp?seccion=noticias&id=2025>

<http://www.agroinformacion.com/noticias/5/citricos/23766/objetivo-investigar-el-genoma-de-los-citricos.aspx>

http://www.valenciafruits.com/ACTUALIDAD_10_02_16/AGROCULTIVOS_02.HTML

<http://www.eumedia.es/portales/agronline/noticias-proyecto-citruseq-para-investigar-genoma-citricos/1/140.html>

http://www.neoagriculture.datacontrol.es/index.php/citricos/1015--investigacion-sobre-el-genoma-de-los-citricos--100210.html?keepThis=true&TB_iframe=true&height=450&width=850

<http://209.85.229.132/search?q=cache:gJkme2gwzuEJ:propapaya.org/noticias/179+citruseq&cd=11&hl=es&ct=clnk&gl=es>

<http://cooperativismo-regional.laverdad.es/fecoam/2101-mandarinas-para-todo-el-ano>

http://www.phytoma.com/noticias_detalle.php?id=464&referer=noticias

<http://www.lasprovincias.es/v/20100307/dinero/mejora-citricola-genes-20100307.html>

<http://www.lasprovincias.es/v/20100209/economia/investigan-genoma-citricos-20100209.ht>

<http://www.elperiodicomediterraneo.com/noticias/noticia.asp?pkid=531615>



Participación congresos



CITRUSEQ CITRUSGENN

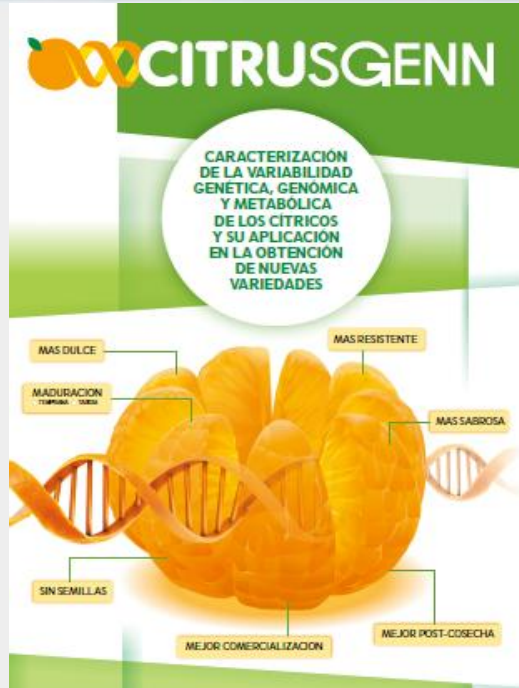


- 1 **Talon M, Cerco M., Iglesia D J, Colmenero-Flores J M, Ibanyez V, Brumos J, Herrero-Ortega MA, Terol J, Tadeo F R** (2010) Developments in citrus genomics and breeding. **Omics-based Fruit Tree Molecular Biology and Biotechnology**, Wuham, China
- 2 **Cercos M, Herrero-Ortega MA , Ibáñez V, Merelo P, Muñoz JV, Usach A, Iglesias DJ, Arbona V, Terol J, Tadeo FR, Talon M** (2010) Tecnologías “Omicas” y Estrategias de Mejora en Citricos para Enfrentarse a Nuevas Amenazas del Cambio Climático, **III Simposio Internacional de Fruticultura Tropical y Subtropical**, La Habana, Cuba
- 3 **Talon M, Pellicer J** (2010). Revolución de las nuevas variedades de cítricos. **XXVII Jornadas agrícolas y comerciales**, Huelva, España
- 4 **Talon M, Cercos M, Iglesias D J, Colmenero-Flores J M, Ibanyez V, Brumos, J, Herrero-Ortega MA, Terol J, Tadeo F R** (2010) Citrus genomics and breeding. **28th International Horticultural Congress**, Lisboa, Portugal
- 5 **Tadeo FR, Agustí J, Merelo P, Cercós M, Terol J, Domingo C, Talón M** (2010) Functional genomic approaches to understanding abscission activation in Citrus. **28th International Horticultural Congress**, Lisboa, Portugal
- 6 **Morillon R, Thierry A, Brumos J, Colmenero-Flores JM, Iglesias DJ, Pina JA, Tadeo FR, Talon M, Navarro L, Ollitrault, P.** (2010) Tetraploid Citrus limonia rootstocks are more tolerant to water deficit than parental diploids and present large gene expression changes in roots. **28th International Horticultural Congress**, Lisboa, Portugal
- 7 **Cercós M, Ibañez V, Iglesias DJ, Terol J, Muñoz JV, Arbona V, Tadeo FR, Talón M** (2010) Regulation of Acid Metabolism in Citrus. **XVIII Plant and Animal Genome Congress PAGXVII**, San Diego, USA

CITRUSEQ CITRUSGENN



Participación Jornadas: Jornadas Puertas Abiertas Fundación Cajamar



CITRUSGENN

CARACTERIZACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA, GENÓMICA Y METABÓLICA DE LOS CÍTRICOS Y SU APLICACIÓN EN LA OBTENCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES

- MÁS DULCE
- MÁS RESISTENTE
- MADURACIÓN TEMPRANA / TARDÍA
- MÁS SABOROSA
- SIN SEMILLAS
- MEJOR COMERCIALIZACIÓN
- MEJOR POST-COSECHA



nature
biotechnology

OPEN

Sequencing of diverse mandarin, pummelo and orange genomes reveals complex history of admixture during citrus domestication

G Albert Wu^{1,29}, Simon Prochnik^{1,29}, Jerry Jenkins², Jerome Salse³, Uffe Hellsten¹, Florent Murat³, Xavier Perrier⁴, Manuel Ruiz⁴, Simone Scalabrini⁵, Javier Terof⁶, Marco Aurélio Takita⁷, Karine Labadie⁸, Julie Poulain⁸, Arnaud Couloux⁸, Kamel Jabbari⁸, Federica Cattonaro⁵, Cristian Del Fabbro⁵, Sara Pinosio⁵, Andrea Zuccolo^{5,9}, Jarrod Chapman¹, Jane Grimwood², Francisco R Tadeo⁶, Leandro H Estornell⁶, Juan V Muñoz-Sanz⁶, Victoria Ibanez⁶, Amparo Herrero-Ortega⁶, Pablo Aleza¹⁰, Julián Pérez-Pérez^{11,12}, Daniel Ramón¹¹, Dominique Brunel^{8,13}, François Luro¹⁴, Chunxian Chen^{15,28}, William G Farmerie¹⁶, Brian Desany¹⁷, Chinnappa Kodira¹⁷, Mohammed Mohiuddin¹⁷, Tim Harkins^{17,28}, Karin Fredrikson¹⁷, Paul Burns^{18,19}, Alexandre Lomsadze^{18,19}, Mark Borodovsky¹⁸⁻²⁰, Giuseppe Reforgiato²¹, Juliana Freitas-Astúa^{7,22}, Francis Quetier^{8,23}, Luis Navarro¹⁰, Mikeal Roose²⁴, Patrick Wincker^{8,23,25}, Jeremy Schmutz², Michele Morgante^{5,26}, Marcos Antonio Machado⁷, Manuel Talon⁶, Olivier Jaillon^{8,23,25}, Patrick Ollitrault⁴, Frederick Gmitter¹⁵ & Daniel Rokhsar^{1,27}

Cultivated citrus are selections from, or hybrids of, wild progenitor species whose identities and contributions to citrus domestication remain controversial. Here we sequence and compare citrus genomes—a high-quality reference haploid clementine genome and mandarin, pummelo, sweet-orange and sour-orange genomes—and show that cultivated types derive from two progenitor species. Although cultivated pummelos represent selections from one progenitor species, *Citrus maxima*, cultivated mandarins are introgressions of *C. maxima* into the ancestral mandarin species *Citrus reticulata*. The most widely cultivated citrus, sweet orange, is the offspring of previously admixed individuals, but sour orange is an F1 hybrid of pure *C. maxima* and *C. reticulata* parents, thus implying that wild mandarins were part of the early breeding germplasm. A Chinese wild 'mandarin' diverges substantially from *C. reticulata*, thus suggesting the possibility of other unrecognized wild citrus species. Understanding citrus phylogeny through genome analysis clarifies taxonomic relationships and facilitates sequence-directed genetic improvement.

Citrus are widely consumed worldwide as juice or fresh fruit, providing important sources of vitamin C and other health-promoting compounds. Global production in 2012 exceeded 86 million metric tons, with an estimated value of \$9 billion (<http://www.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>). The very narrow genetic diversity

of cultivated citrus makes them highly vulnerable to disease outbreaks, including citrus greening disease (also known as Huanglongbing or HLB), which is rapidly spreading throughout the world's major citrus-producing regions¹. Understanding the population genomics and domestication of citrus will enable

© 2014 Nature America, Inc. All rights reserved.



Citrus ancestry through genomics
Off-target Cas9 binding
Clinical predictions and TCGA

¹US Department of Energy Joint Genome Institute, Walnut Creek, California, USA. ²HudsonAlpha Biotechnology Institute, Huntsville, Alabama, USA. ³Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Université Blaise Pascal (UBP) UMR 1095 Génétique, Diversité, Ecophysiologie des Céréales (GDEC), Clermont Ferrand, France. ⁴Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), UMR Amélioration Génétique et Adaptation des Plantes Méditerranéennes et Tropicales (AGAP), Montpellier, France. ⁵Instituto di Genomica Applicata, Udine, Italy. ⁶Centro de Genomica, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Valencia, Spain. ⁷Centro de Citricultura Sylvio Moreira, Instituto Agronômico (IAC), Cordeirópolis, Brazil. ⁸Commissariat à l'Énergie Atomique (CEA), Institut de Génétique (IG), Genoscope, Evry, France. ⁹Institute of Life Sciences, Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa, Italy. ¹⁰Centro de Protección Vegetal y Biotecnología-Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Moncada, Spain. ¹¹Lifesequencing, Madrid, Spain. ¹²Secugen, Madrid, Spain. ¹³INRA, US 1279 Etude du Polymorphisme des Génomes Végétaux (EPGV), Evry, France. ¹⁴INRA Génétique et Ecophysiologie de la Qualité des Agrumes (GEQA), San Giuliano, France. ¹⁵Citrus Research and Education Center (CREC), Institute of Food and Agricultural Sciences (IFAS), University of Florida, Lake Alfred, Florida, USA. ¹⁶Interdisciplinary Center for Biotechnology Research, University of Florida, Gainesville, Florida, USA. ¹⁷454 Life Sciences, Roche, Branford, Connecticut, USA. ¹⁸Wallace H. Coulter Department of Biomedical Engineering, Georgia Institute of Technology, Atlanta, Georgia, USA. ¹⁹School of Computational Science and Engineering, Georgia Institute of Technology, Atlanta, Georgia, USA. ²⁰Department of Biological and Medical Physics, Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia. ²¹Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura (CRA-ACM), Arcore, Italy. ²²Embrapa Cassava and Fruits, Cruz das Almas, Brazil. ²³Département de Biologie, Université d'Evry, Evry, France. ²⁴Department of Botany and Plant Sciences, University of California, Riverside, Riverside, California, USA. ²⁵Centre National de Recherche Scientifique (CNRS), Evry, France. ²⁶Department of Agriculture and Environmental Sciences, University of Udine, Udine, Italy. ²⁷Division of Genetics, Genomics and Development, University of California, Berkeley, Berkeley, California, USA. ²⁸Present addresses: Life Technologies, Grand Island, New York, USA (T.H.) and US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Southeastern Fruit and Nut Research Laboratory, Byron, Georgia, USA (C.C.). ²⁹These authors contributed equally to this work. Correspondence should be addressed to D.R. (drokhsar@gmail.com) or F.G. (fgmitter@ufl.edu).

Received 9 October 2013; accepted 14 April 2014; published online 8 June 2014; doi:10.1038/nbt.2906



Muchas Gracias

