



Sociedad
Española
de **Ciencias**
Hortícolas

90

Septiembre 2022

ACTA DE HORTICULTURA

**Comunicaciones Técnicas
Sociedad Española de
Ciencias Hortícolas**

**X Congreso Nacional de
Mejora Genética de Plantas**

**Editores:
Rosa Ana Malvar
Pedro Fiz Rocha**

Pontevedra, 19-22 de septiembre 2022

54. Evaluación de portainjertos para nuevas variedades de albaricoquero rojo

P. Irisarri^{1,2*}, P. Errea^{1,2} y A. Pina^{1,2}

¹Departamento de Ciencia Vegetal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avenida Montañana 930, 50059, Zaragoza.

²Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Calle Miguel Servet, 177, 50013, Zaragoza.

*Autor para correspondencia: pirisarri@cita-aragon.es

Palabras clave: Compatibilidad de injerto, Histología, Interacción variedad-portainjerto; PAL, *Prunus armeniaca* L.

RESUMEN

En los últimos años, se está produciendo una importante renovación de material vegetal procedente de diferentes programas de mejora en albaricoque para mejorar la resistencia a estreses bióticos y abióticos, la extensión de la época de cosecha, su productividad, y la calidad del fruto, especialmente referida a su apariencia y buenas propiedades organolépticas (que intervienen en la aceptación por el consumidor). Sin embargo, se desconoce la compatibilidad del injerto de muchos de estos cultivares de albaricoquero con los portainjertos del género '*Prunus*' más populares, y esta es una característica agronómica esencial para su mejor rendimiento y longevidad, por lo que resulta prioritario el conocimiento de las reacciones de incompatibilidad antes de introducir nuevos cultivares en el mercado. En este estudio, se llevaron a cabo distintos análisis en etapas tempranas de desarrollo para la determinación de la compatibilidad del injerto de tres variedades rojas '*Pricia*', '*Rubilis (cov)*' y '*Rubissia (cov)*' y tres selecciones avanzadas de albaricoque rojo injertadas en cuatro portainjertos del género '*Prunus*': '*Mariana2624*' (*P. cerasifera* × *P. musoniana*), '*Miragreen*' (*P. cerasifera* × *P. davidiana*), '*Mirared*' (*P. cerasifera* × *Nemared*) y '*Montclar*' (*P. persica* L.). El fenotipado de las distintas combinaciones se realizó mediante análisis histológicos, de expresión génica de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) y anatómicos en la zona de unión del injerto, a un mes, tres meses y a un año después del injerto, respectivamente. Los resultados destacaron a '*Miragreen*' y '*Mirared*' como portainjertos prometedores para el albaricoque, mostrando el mayor grado de compatibilidad con las variedades de albaricoque del ensayo.

INTRODUCCIÓN

El albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.) pertenece a la familia de las Rosaceae cuyo cultivo en Europa se concentra aproximadamente el 20% de la producción mundial y España se sitúa entre los 10 países con más producción. En la actualidad, dado que el albaricoque es una fruta muy versátil, hay un gran interés por la renovación de material vegetal procedente de diferentes programas de mejora para desarrollar resistencias a estreses bióticos y abióticos, aumentar la época de cosecha, su productividad, y la calidad del fruto. Sin embargo, hay aspectos de su comportamiento agronómico que se desconocen como la compatibilidad de injerto de muchos de estos nuevos cultivares con los portainjertos del género '*Prunus*' más populares. Esta característica es esencial para su mejor rendimiento, longevidad, resistencia a enfermedades/plagas. La compatibilidad de injerto es un carácter agronómico complejo que

se ha relacionado con diferentes procesos fisiológicos y moleculares en las primeras etapas del desarrollo del injerto (Pina et al., 2017). A nivel fisiológico, las combinaciones de injertos incompatibles se caracterizan por discontinuidades anatómicas en la zona de unión del injerto y conexiones vasculares deficientes que conducen a la debilidad mecánica y posterior ruptura de la unión que puede tardar años en manifestarse (Pina et al., 2017; Reig et al., 2018). Debido a la introducción de un número cada vez mayor de nuevos cultivares de albaricoque para los que se desconoce su respuesta al de injerto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la compatibilidad de injerto de 6 nuevos cultivares de albaricoque rojo de diferentes programas de mejora injertados en cuatro portainjertos del género '*Prunus*' diferentes. El análisis se realizó en las primeras etapas del desarrollo del injerto combinando análisis histológicos, moleculares y anatómicos.

MATERIAL Y METODOS

Material vegetal

Se seleccionaron 3 variedades de albaricoque de reciente introducción ('Pricia', 'Rubilis (cov)', 'Rubissia (cov)') y 3 selecciones avanzadas ('M001', 'M002', 'M003') con comportamiento de compatibilidad de injerto desconocido. Estas variedades se injertaron en 4 portainjertos: 'Mariana2624' (*Prunus cerasifera* x *Prunus musoniana*, en lo sucesivo denominada 'MN2624'), 'Miragreen' (*P. cerasifera* x *P. davidiana*), 'Mirared' (*P. cerasifera* x *Nemared*) y 'Montclar' (*Prunus persica* L.) en los Viveros Mariano Soria S.L., ubicados en La Almunia-Cariñena km 4.800 Zaragoza, España (41°28'37,4"N 1°22'26,8"O). En las primaveras de 2017 y 2018 se realizaron 12 injertos por combinación mediante 'chip-budding'. El fenotipado para la compatibilidad del injerto durante esos dos años se realizó mediante observaciones microscópicas a los 42 días después del injerto (DAG), análisis molecular tres meses después del injerto y evaluación anatómica al año del injerto.

Caracterización histológica los 42 días después del injerto (DAG)

Los injertos se cortaron 1 cm por encima y por debajo de la unión del injerto, se fijaron en etanol (96 %) /ácido acético 3:1 (v/v) durante 24 horas, luego se transfirieron a etanol (70 %) y se almacenaron a 4°C para su conservación, hasta su posterior uso. Se obtuvieron cortes longitudinales a mano alzada de la superficie del injerto en todas las uniones, y se tiñeron en placas Petri durante 30 segundos con calcofluor 0.07% en agua destilada(p/v), tinción específica para celulosa. Las secciones se observaron utilizando un microscopio de fluorescencia Olympus BH2-RFCA equipado con un sistema de imagen digital a través de una cámara USB 2 uEye SE (IDS, Obersulm, Alemania). Se probaron tres réplicas para cada combinación de injertos. Las diferentes combinaciones se clasificaron según el patrón celular, es decir, la disposición celular, la forma y la proliferación celulares en la zona de unión del injerto, clasificando 5 niveles de fenotipado siendo '1' cuando el espacio de la zona de unión está relleno por células de callo ordenadas (desarrollo compatible) y '5' cuando el espacio entre la variedad y el patrón está prácticamente vacío o con pocas células de callo desordenadas (desarrollo incompatible) (Irisarri et al., 2019).

Caracterización molecular 3 meses después del injerto

La zona de unión del injerto se tomó con bisturí, se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenó a -80 °C hasta la extracción del ARN (protocolo CTAB). Todas las muestras de ARN se digirieron con turbo DNasa (Ambion, California, EE. UU.) para eliminar la posible contaminación por ADN y 1 µg de ARN total se transcribió inversamente con el kit First Strand cDNA Synthesis (Thermo Scientific, California, EE. UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La PCR en tiempo real (qPCR) se realizó en un equipo CFX96 Touch™ (Bio Rad, California, EE. UU.), en un volumen total de 10 µl. Las RT-PCR se llevaron a cabo con los cebadores específicos de genes (PAL 1 y PAL2) descritos en Irisarri et al (2016).

Observaciones anatómicas un año después del injerto

La caracterización interna de la unión del injerto se realizó mediante un corte longitudinal en la zona del injerto con una sierra DW876 (Dewalt, Italia). Se observó la anatomía en la superficie de la unión utilizando una lupa (Irisarri et al., 2021) y la clasificación se realizó según las cinco categorías de Herrero (1951). En esta clasificación, las categorías establecidas presentan un rango desde la 'A', que representa unión perfecta en la que la línea de injerto es casi invisible, hasta la 'E', que representa rotura del injerto en el punto de unión. Cuando la mayoría de las uniones de una variedad se clasifican en 'A' y 'B', pueden considerarse compatibles. Sin embargo, si la mayoría están en 'D' y 'E', se consideran incompatibles.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización histológica 42 días después del injerto

Los portainjertos que mostraron mejor respuesta (buena proliferación, disposición y forma celular entre ambas partes del injerto) fueron 'Miragreen' y 'Mirared'. Sin embargo, los peores resultados se encontraron para las variedades de albaricoque rojo injertados en 'Montclar' y 'MN2624'.

Análisis molecular 3 meses después del injerto

Los análisis moleculares basados en la expresión de los genes *PAL1* y *PAL2* a los 3 meses después del injerto mostraron que *PAL1* se expresaba más en injertos incompatibles. Los resultados de 'Montclar' mostraron un alto nivel de *PAL1* que estaba relacionado con la incompatibilidad del injerto (Fig. 1). 'Miragreen' y 'Mirared' tuvieron un mayor aumento en *PAL2* en comparación con 'Montclar' y 'MN2624' que podrían estar relacionados con la lignificación (Irisarri et al. 2021) (Fig. 1).

Clasificación anatómica 1 año después del injerto

Los resultados revelaron que 'Miragreen' y 'Mirared' presentaban más uniones clasificadas como compatibles (58% y 61% respectivamente) que 'Montclar' y 'MN2624' (46% y 16% respectivamente) y se encontró la mejor afinidad variedad-patrón para 'Pricia' injertado en 'MN2624', 'Rubissia (cov)' en 'Miragreen', 'M002' en 'Mirared' y 'Rubilis (cov)' en 'Montclar'. Sin embargo, las peores combinaciones variedad-patrón fueron 'Rubilis (cov)' injertado en 'MN2624', 'M002' en 'Miragreen', 'Rubissia (cov)' en 'Mirared' y 'M003' en 'Montclar'.

Los resultados destacaron a 'Miragreen' y 'Mirared' como portainjertos prometedores para el albaricoque, mostrando el mayor grado de compatibilidad con las variedades de albaricoque del ensayo. Estos resultados ofrecen información útil para los mejoradores y productores al seleccionar la combinación cultivar-portainjerto más adecuado para el diseño eficiente de nuevas plantaciones, mejorando la rentabilidad de las explotaciones agrarias y optimizando la producción y sostenibilidad del cultivo.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), proyectos RTA2015-00046 y FP2015-00015, y por el grupo consolidado de investigación A12 del Gobierno de Aragón.

REFERENCIAS

- Herrero, J., 1951. Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees. *J. Hort. Sci.* 26, 186–237.
- Irisarri, P., Errea, P., Pina, A., 2021. Physiological and molecular characterization of new apricot cultivars grafted on different prunus rootstocks. *Agronomy* 11, 1–19. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081464>
- Irisarri, P., Zhebentyayeva, T., Errea, P., Pina, A., 2019. Inheritance of self- and graft-incompatibility traits in an F1 apricot progeny. *PLoS One* 14, e0216371. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216371>
- Irisarri, P., Zhebentyayeva, T., Errea, P., Pina, A., 2016. Differential expression of phenylalanine ammonia lyase (PAL) genes implies distinct roles in development of graft incompatibility symptoms in *Prunus*. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 204, 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.03.025>
- Pina, A., Cookson, S., Calatayud, A., Trinchera, A., Errea, P., 2017. Physiological and molecular mechanisms underlying graft compatibility, in: Colla, G., Perez-Alfocea, F., Schwarz, D. (Eds.), *Vegetable Grafting: Principles and Practices*. CABI Publishing, UK, pp. 132–154.
- Reig, G., Zarrouk, O., Font i Forcada, C., Moreno, M.Á., 2018. Anatomical graft compatibility study between apricot cultivars and different plum based rootstocks. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 237, 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.035>

FIGURAS

Figuras

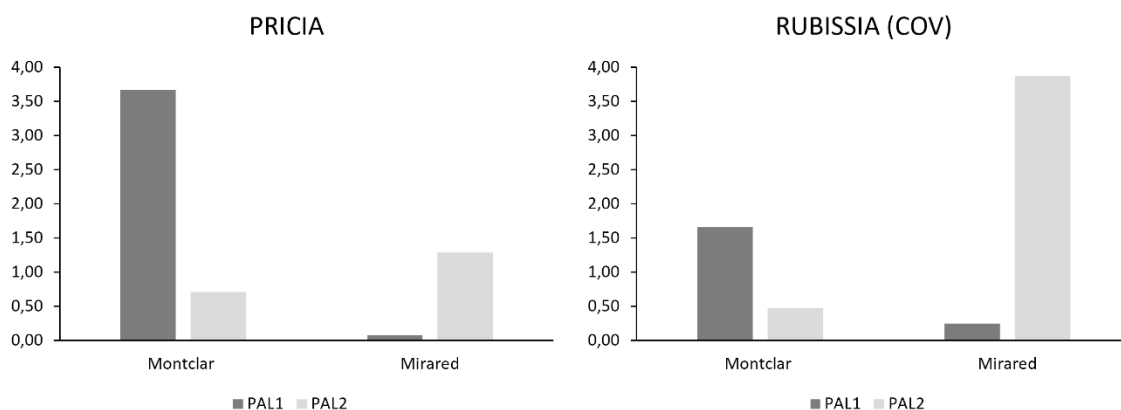


Figura 1. Perfiles de expresión de los genes PAL (*PAL1* y *PAL2*) de las variedades ‘Pricia’ y ‘Rubissia(cov)’ injertadas en ‘Montclar’ y ‘Mirared’.