



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

43. Identificación de genes de resistencia a moteado (*Venturia inaequalis*) en accesiones locales de manzano prospectadas en zonas de montaña de Aragón.

A Pina^{1,2} y P. Errea^{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: apina@cita-aragon.es

Palabras clave: Germoplasma, *Malus x domestica* Borkh, Marcadores moleculares, PCR, Recursos genéticos.

RESUMEN

El moteado (*Venturia inaequalis*) es una de las enfermedades más importantes del cultivo del manzano en las principales zonas productoras del mundo. El incremento de la misma se debe esencialmente a la mayor sensibilidad de las variedades que hoy día se cultivan, pero considerando también que en los últimos años se están dando condiciones climáticas favorables para su desarrollo, sobre todo en las primeras fases del ciclo vegetativo. En Aragón, las condiciones climáticas (clima seco y cálido del nordeste y zonas de clima templado húmedo de las zonas de montaña) propician la aparición de la enfermedad, produciendo importantes pérdidas económicas. El objetivo del trabajo es identificar genes de resistencia al moteado (*Venturia inaequalis*) en variedades locales de manzano prospectadas en zonas de montaña de Aragón, que podrían suponer una alternativa a las variedades comerciales para las zonas donde las condiciones ambientales favorecen la enfermedad del moteado. Dado que el material a evaluar en este estudio son variedades tradicionales muy antiguas mantenidas en su entorno durante décadas, se presupone una buena adaptación al medio, y por tanto es probable que se trate de variedades con fuentes de resistencia natural al moteado. En este trabajo, se han identificado y ampliado mediante PCR cuatro genes de resistencia a moteado (*Rvi2*, *Rvi4*, *Rvi6*, *Rvi11*) en 68 accesiones locales de manzano, y 9 variedades comerciales procedentes de distintos programas de mejora. Un alto número de las accesiones locales han mostrado la amplificación de al menos dos genes de resistencia, lo que indica el potencial que estas variedades locales recuperadas tienen en la búsqueda de fuentes de resistencia a moteado. Esto abre la puerta a la selección de aquellas accesiones que presentan las mejores combinaciones, para poder ser utilizadas en el diseño de nuevos cruzamientos.

INTRODUCCIÓN

La manzana es uno de los principales cultivos en Europa y España, ya que es la principal especie frutal de zonas templadas en superficie (0,5 millones de ha) y producción (10 TM) a nivel europeo, y la segunda después del melocotón en España, con 0,5 millones de ha. MT producido según datos de la FAO (www.fao.org). Sin embargo, el cultivo de la manzana está sufriendo pérdidas en producción y pérdidas económicas en los últimos años, debido entre otros factores, a que las condiciones climáticas están afectando tanto a la calidad como a la incidencia de enfermedades. Este hecho se acrecienta ante la realidad de la poca diversidad varietal que centra su cultivo. El 90 % de la producción de manzana está

en la actualidad concentrado en tan sólo cuatro grupos varietales ('Golden', 'Gala', 'Red Delicious' y 'Reineta'), de las que el 'Grupo Golden' supone aproximadamente la mitad de la producción nacional (Iglesias y Alegre, 2014). En este contexto, resulta fundamental poder disponer de fuentes de variabilidad dentro de cada especie, y para ello se abordaron programas de recuperación de frutales abandonados, ante la posibilidad de desaparición de muchas variedades tradicionales por el patrimonio genético que representan. En el CITA de Aragón, se lleva trabajando desde hace unos años en la recuperación de estos frutales locales que quedaron abandonados en huertos familiares y que ha permitido la recuperación y caracterización de más de 100 genotipos distintos de manzano (Pina et al., 2014). Estas variedades, bien adaptadas a su entorno, y que han sobrevivido durante años a la falta de cuidados, podrían ser una alternativa en la búsqueda de, entre otros factores, resistencias naturales a determinadas patologías.

La infección de mota (*Venturia inaequalis*) es una de las enfermedades más comunes en el manzano en las condiciones climáticas de las principales zonas de producción de Aragón (clima seco y cálido del nordeste y zonas de clima templado húmedo de las zonas de montaña) y del resto del país, y la enfermedad que más pérdidas económicas ocasiona en estas condiciones edafoclimáticas (Iglesias y Alegre, 2014). El objetivo de este trabajo es identificar, entre un conjunto de variedades locales de las que ya se conoce su diversidad genética, genes de resistencia al moteado (*Venturia inaequalis*) que permita seleccionar aquellas accesiones con las mejores combinaciones para ser utilizadas en el diseño de nuevos cruzamientos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las 68 accesiones de manzano evaluadas en este estudio son variedades tradicionales muy antiguas prospectadas en zonas de montaña de Aragón con diferentes características eco-geográficas (Sistema Ibérico y Pirineos) (Pina et al., 2014, Pereira et al., 2017). Actualmente, dicho material está conservado en las colecciones del CITA en Zaragoza y en Bescós de la Garcipollera (Jaca, 930m de altitud). Se realizó la extracción de ADN siguiendo el protocolo de CTAB y se utilizaron marcadores moleculares ligados a diferentes fuentes de resistencia a moteado en manzano (*Rvi2*, *Rvi4*, *Rvi6* y *Rvi11*) descritos en la literatura (Tabla 1).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo, se han identificado y ampliado mediante PCR cuatro genes de resistencia a moteado (*Rvi2*, *Rvi4*, *Rvi6*, *Rvi11*) en 68 accesiones locales de manzano, y 9 variedades comerciales procedentes de distintos programas de mejora. Los marcadores moleculares ligados a los genes de interés amplificaron tamaños de 433 bp (*Rvi2*), 950 bp (*Rvi4*), 466 pb (*Rvi6* o *Vf*) y 743 bp (*Rvi11*) de acuerdo con otros estudios (Tartarini et al., 1999, Bus et al., 2005) (Fig. 1). El gen *Rvi2* fue amplificado por el 56% de las accesiones locales y el 44% de las variedades de referencia. De forma similar, los resultados mostraron la presencia del gen *Rvi11* en el 68 % de accesiones locales, frente al 44% de variedades de referencia. El marcador *Rvi4* amplificó 3 alelos, a=1300 bp, b= 1100 pb, y el alelo de resistencia c = 950 bp. La mayoría de las accesiones locales contienen los alelos 'a' y 'b' mientras que solo un 7 % de las accesiones presentaron el alelo de resistencia. Sin embargo, el gen de resistencia a moteado *Rvi6* (*Vf*) amplificó únicamente en las variedades de referencia 'Story', 'Prima' y 'Florina'. 3 accesiones locales amplificaron 3 genes de resistencia *Rvi2*, *Rvi4* y *Rvi11*; 22 amplificaron los genes *Rvi2* y *Rvi11*; y 4 accesiones combinaron los genes *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*) o incorporar más de una en una misma variedad (genes piramidales para que la resistencia sea duradera en el tiempo).

Los resultados obtenidos han permitido por primera vez, la identificación de fuentes de resistencia a moteado en variedades recuperadas en zonas de montaña, y abre la puerta a la posibilidad de seleccionar aquellas accesiones que presentan las mejores combinaciones, susceptibles de ser utilizadas en el diseño de nuevos cruzamientos. En la actualidad, se está evaluando la correlación existente entre la presencia de estos marcadores moleculares y la resistencia natural en campo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el grupo consolidado de investigación A12_R20 del Gobierno de Aragón y forma parte del Proyecto AGROALNEXT financiado por el MCIN con fondos de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1).

REFERENCIAS

- 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
- 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., Urrestarazu, 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., Urrestarazu, 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 genepool. *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.

TABLAS Y FIGURAS

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

Nomenclatura histórica	Nueva nomenclatura*	Nombre marcador	Tipo PCR	Tamaño (bp)	Referencias
<i>Vr</i>	<i>Rvi2</i>	OPL 19	SCAR	433	Bus at al. 2005
<i>Vr1</i>	<i>Rvi4</i>	AD13	SCAR	950	Boudichevskaia et al. 2006
<i>Vbj</i>	<i>Rvi11</i>	SCAR a+b	SCAR a+b	743	Gygax et al. 2004
<i>Vf</i>	<i>Rvi6</i>	VfT F+R	SCAR	466	Tartarini et al. 1999

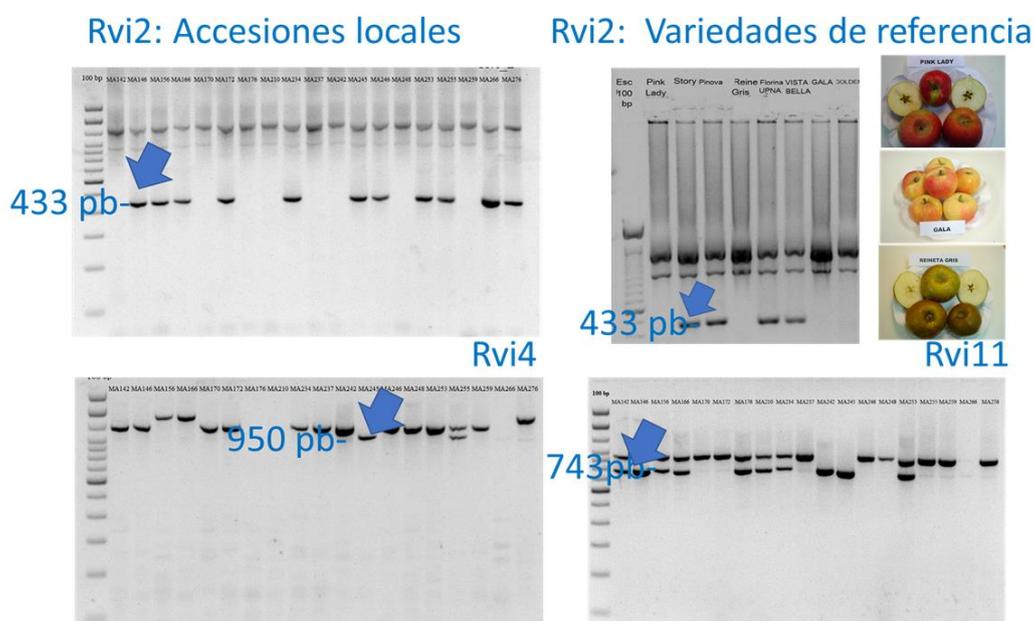


Figura 1. Identificación de genes de resistencia a moteado (*Rvi2*, *Rvi4* y *Rvi11*) en accesiones locales de manzano y de referencia.