

Contribución de la mejora genética al cultivo de la cebolla

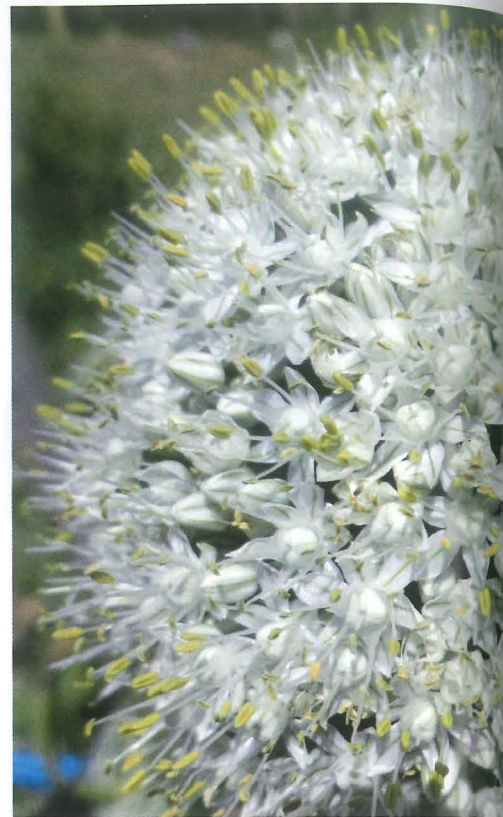
La cebolla (*Allium cepa* L.) es un alimento imprescindible en nuestra dieta mediterránea, así como en numerosas culturas culinarias de todo el mundo. La gran cantidad de variedades existentes junto con las especies silvestres relacionadas son el punto de partida de la mejora genética de este cultivo, cuyo objetivo es hacer frente a los retos agrícolas (adaptación, rendimiento, enfermedades, etc.) y alimenticios (nutrición, calidad organoléptica, etc.).

Oreto Fayos, Cristina Mallor y Ana Garcés-Claver

Departamento de Ciencia Vegetal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza)

M^a Pilar Vallés y Ana Castillo

Departamento de Genética y Producción Vegetal, Estación Experimental de Aula Dei, EEAD-CSIC



El bulbo que se produce se utiliza tanto en estado inmaduro como maduro para ensaladas, encurtidos, especias y condimentos, y se consume tanto cruda como cocinada (Fayos y col., 2018).

La cebolla parece ser originaria de la región que engloba Irán y el oeste de Pakistán. Los centros secundarios de diversificación abarcan la zona de Asia Occidental y los países del Mediterráneo, y desde allí se introdujo en América por viajeros y comerciantes (Mallor y col., 2011; Mallor y col., 2014). Actualmente, el mayor productor de cebolla a nivel mundial es India (26 millones de toneladas), seguido por China (23 millones toneladas) y Estados Unidos (3 millones de toneladas). En España, con una producción de 1.319.800 toneladas (FAO, 2022), las principales zonas de cultivo son Castilla La Mancha, Castilla León y Aragón (principalmente cebolla de tipo medio grano o Liria), y Andalucía, Murcia y Valencia (principalmente cebolla de tipo babosa) (MAPA, 2021). La cebolla es una especie bienal, que se cultiva como anual para el consumo de sus bulbos maduros y firmes, aunque también es muy apreciada antes de la maduración del bulbo, lo que conocemos



Foto 1
Umbela de cebolla

Los programas de mejora genética en cebolla comenzaron en varios países durante el siglo XIX, pero no fue hasta la mitad del siglo XX, con el descubrimiento de la androesterilidad citoplasmática, cuando se pudieron desarrollar los primeros cruzamientos dirigidos y los híbridos F₁ (Brewster, 2008). La androesterilidad citoplasmática es un fenómeno por el cual el gameto masculino no es funcional, es decir, el polen no es fértil, lo que permite la realización de cruzamientos controlados, y por tanto desarrollar híbridos F₁. Actualmente se dispone de marcadores moleculares (como los marcadores MK, OPT, PsaO o jnurfo5) asociados a la androesterilidad que permiten identificar los genotipos útiles en la obtención de los híbridos (Garcés-Claver y col., 2015).

Aunque el desarrollo de híbridos F₁ es destacable en este cultivo, muchos de los programas de mejora convencionales de cebolla se han llevado a cabo mediante selección masal a partir de cultivares locales que, una vez mejorados, se han mantenido como variedades de polinización abierta. Este es el caso del programa de mejora llevado a cabo con la variedad tradicional aragonesa “Cebolla Dulce de Fuentes”. El programa se inició con una selección masal, en la que se identificaron los mejores bulbos, considerando como criterio principal de selección el picor o la pungencia. Tras esta primera fase, se realizó una selección genealógica, evaluando de forma separada las descendencias de cada bulbo, que son familias de medios hermanos al tener como progenitor común la misma planta madre (Mallor,

2012; Mallor y col., 2008). La semilla obtenida al finalizar este proceso de selección se utiliza para el cultivo de la cebolla con Denominación de Origen Protegida “Cebolla Fuentes de Ebro”, la única a nivel nacional con esta distinción de calidad diferenciada (**Foto 2**).

El desarrollo y la utilización de herramientas moleculares en los programas de mejora genética de la cebolla se han visto obstaculizados por el gran tamaño de su genoma, su ciclo de vida bienal, su naturaleza de polinización cruzada, la elevada depresión por consanguinidad y la reducida comunidad de investigadores que trabajan en esta especie (McCallum, 2007) (**Foto 3**). Sin embargo, la incorporación de tecnologías de secuenciación de nueva generación (*next-generation sequencing technologies*) en la última década están permitiendo obtener una gran cantidad de recursos genómicos, como la reciente secuenciación de genoma de la cebolla (Finkers y col., 2021). Estos nuevos conocimientos que se proporcionan sobre la base genética y molecular de los principales rasgos de interés en la mejora de este cultivo permiten acelerar los programas de mejora convencionales. A continuación, se presentan ejemplos de avances en algunos de los objetivos de mejora genética de este cultivo.

Adaptación a diferentes condiciones de fotoperíodo y precocidad

La formación del bulbo está regulada por el fotoperíodo u horas de luz diarias y acumuladas a lo largo de un determi-

como ‘cebolla tierna’, que se suele comercializar en manojos junto a las hojas verdes. El bulbo es el tallo engrosado y corto envuelto por capas o túnicas de hojas modificadas y engrosadas. Las flores, agrupadas en umbelas, son hermafroditas, pero no son autógamias ya que el polen se libera antes de que el estigma sea receptivo (protandria). La apertura floral es irregular y dentro de una misma umbela pueden encontrarse flores en distinto grado de desarrollo por lo que el cruzamiento entre flores de una misma umbela en diferente estado de desarrollo es posible (**Foto 1**). La floración y obtención de semilla se produce el segundo año de cultivo.

Existe una amplia variabilidad en tamaños, formas, color, contenido de materia seca y picor o pungencia de bulbos, así como en época de cosecha o respuesta a enfermedades, entre otras características (Mallor y col., 2011). La gran cantidad de variedades existentes junto con las especies silvestres relacionadas son el punto de partida de la mejora genética de este cultivo, cuyo objetivo es hacer frente a los retos agrícolas (adaptación, rendimiento, enfermedades, etc.) y alimenticios (nutrición, calidad organoléptica, etc.).



Foto 2
Bulbos de Cebolla Dulce de Fuentes, variedad muy apreciada por su sabor dulce y que cuenta con una D.O.P. Cebolla Fuentes de Ebro



Foto 3
Parcela destinada a un programa de mejora de cebolla. Las umbelas se embolsan para asegurar el éxito de los cruzamientos dirigidos.

nado número de días. En base a esto, los cultivares de cebolla se agrupan en cultivares de día largo (aprox. 14-16 h), de día intermedio (12-14 h) y día corto (aprox. 10-12 h) (Rashid y col., 2016). La sensibilidad a la duración del día supone una barrera importante para los programas de mejora, ya que los caracteres élite que se encuentran en grupos con diferentes necesidades de fotoperiodo no pueden transferirse de un grupo a otro mediante cruces, lo que compromete la descendencia. Por ello, se está trabajando en la identificación de los genes asociados al control de la formación de los bulbos en función de la longitud del día (genes *AcFT1* y *AcFT4*), con el fin de poder adaptar los nuevos cultivares a diferentes condiciones climáticas y latitudes (Lee y col., 2013; Cheng y col., 2021).

Resistencia a plagas y/o enfermedades

El rendimiento y la calidad de la producción de cebolla se ven afectados por las enfermedades que lo atacan. Aunque se aplican distintas medidas de con-

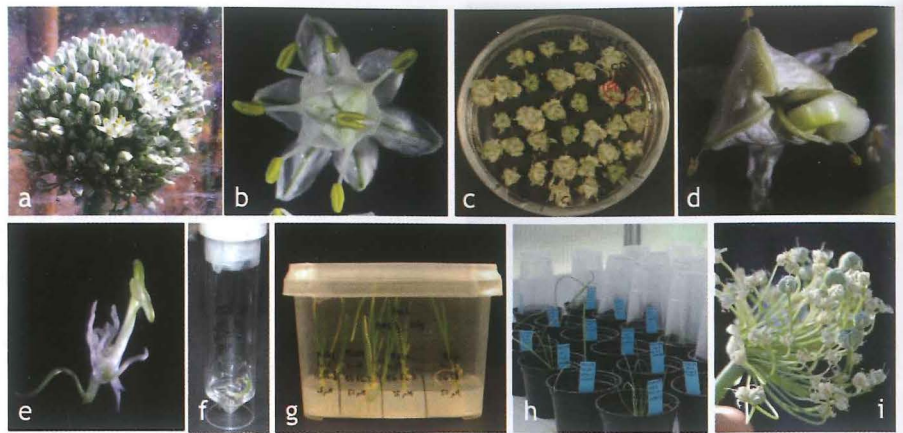


Foto 4
Producción de plantas DH de cebolla a partir de ovarios sin fecundar. a) umbela en el momento óptimo para la producción de DH mediante ginogénesis; b) flor abierta a los 7 días de cultivo; c) flores a los 45 días de cultivo; d) embrión ginogenético emergiendo de la flor; e) embrión aislado; f) duplicación de los embriones; g) desarrollo de los embriones a plántulas; h) aclimatación de las plántulas; i) umbela DH fecundada.

El cultivo de híbridos en cebolla tiene una gran importancia para el agricultor ya que obtiene una mayor producción, y para el obtentor por el valor comercial de la semilla híbrida

trol, como son la rotación de cultivos, la desinfección de la semilla y de suelos, la aplicación de fitosanitarios o la utilización de agentes de biocontrol como los microorganismos *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*, la medida de control más eficaz es la utilización de cultivares resistentes, cuando están disponibles. Ejemplos de estrategias llevadas a cabo en los programas de mejora en relación con las plagas y enfermedades en cebolla son las que se presentan a continuación para la resistencia a trips, el virus de las manchas amarillas del iris, el mildiu y la podredumbre basal.

Los trips de la cebolla (*Thrips tabaci* Lind.) son una plaga que causa daños directos por la alimentación de las larvas y los adultos, lo que lleva a la deformación y el retorcimiento de las hojas, y a una disminución del calibre del bulbo y, por tanto, a una pérdida de producción.

Además, los trips también pueden causar importantes daños indirectos como transmisores del virus de las manchas amarillas del iris (*Iris Yellow Spot Virus*, IYSV). La presencia de este virus fue confirmada en España en 2005 (Córdoba y col., 2005). En las hojas afectadas se observan manchas o lesiones de color claro, secas, de forma irregular, así como marchitamiento foliar; y como consecuencia, se reduce la capacidad fotosintética de la planta y el tamaño del bulbo. Díaz-Montano y col. (2010) identificaron 11 cultivares de cebolla con un elevado nivel de resistencia a *T. tabaci*; sin embargo, encontraron dificultades para seleccionar cultivares resistentes al IYSV. En este sentido, se están realizando esfuerzos en la selección de líneas de mejora que muestran una reducción de la sintomatología del IYSV (Kamal y col., 2021). Los primeros

trabajos de búsqueda de resistencia a los trips determinaron que ésta estaba asociada al color verde más claro y brillante de las hojas, controlado por el gen recesivo *gl*, y a la presencia de ceras en ellas, genes *gls1* y *gls2*. Posteriormente, determinaron que el fenotipo 'brillante' (asociado al gen *gl*) estaba relacionado con el contenido de hentriacontanona-16 (H16) (Damon y Havey, 2014), y se observó que las bajas cantidades de H16 y la alta cantidad de ceras en hojas permitía la selección de cultivares resistentes a los trips.

El mildiu de la cebolla es causado por el hongo *Pezizomyces destructus* (Berk.) Caspary, y sus síntomas son manchas irregulares de tamaño y forma, de coloración verde clara, amarillenta o marrón en las hojas y/o en el tallo floral, que acaba doblándose e inutilizando la inflorescencia para la producción de semillas. Ocasionalmente se observa una especie de polvillo gris violáceo. Su presencia fue descrita ya en 1995 en la Comunidad Valenciana (García-Morató, 1995). Recientemente se ha secuenciado el genoma de *P. destructus* con el fin de disponer de información genética para estudiar los mecanismos moleculares asociados a la patogenicidad de este hongo (Natesan y col., 2020). Paralelamente, se trabaja en la búsqueda de cultivares resistentes, como 'Superprococe' y 'Bola Precoce' descritos por Alves y col. (2018), y en el desarrollo de nuevos cultivares resistentes a través de cruces y selección (Arias y col., 2020). Aunque la resistencia al mildiu de la especie *A. roylei* ha sido introducida con éxito en cebolla (Scholten y col., 2007), se sigue con la búsqueda de resistencias en cultivares de *A. cepa* por los problemas que se generan en los cruzamientos interespecíficos en este género.

Varias especies de *Fusarium* pueden causar la podredumbre basal en cebolla, aunque *F. oxysporum* f. sp. *cepae* (*Foc*) es el hongo más frecuentemente asociado a esta enfermedad. Causa clorosis en las hojas, necrosis en plantas adultas, muerte de la raíz y, finalmente de la planta. Todavía no se conoce con exactitud el control genético de la resistencia a este patógeno, por ello los estudios se centran en la identificación de cultivares comerciales con moderada o alto nivel de resistencia a *Foc* (Cramer y col., 2021).

Desarrollo de doblehaploides para la obtención de híbridos

El cultivo de híbridos en cebolla tiene una gran importancia para el agricultor ya que obtiene una mayor producción, y para el obtentor por el valor comercial de la semilla híbrida. Para poder garantizar la uniformidad de los híbridos, los parentales deben de ser líneas puras. Sin embargo, los híbridos son muy difíciles de conseguir en cebolla utilizando los métodos tradicionales de mejora por la dificultad de obtener los parentales (líneas puras), debido a la depresión por consanguinidad, y por la dificultad de realizar posteriormente los cruzamientos entre

ECOTOP®

Potenciador del cuajado premium

Bioestimulante
de última generación



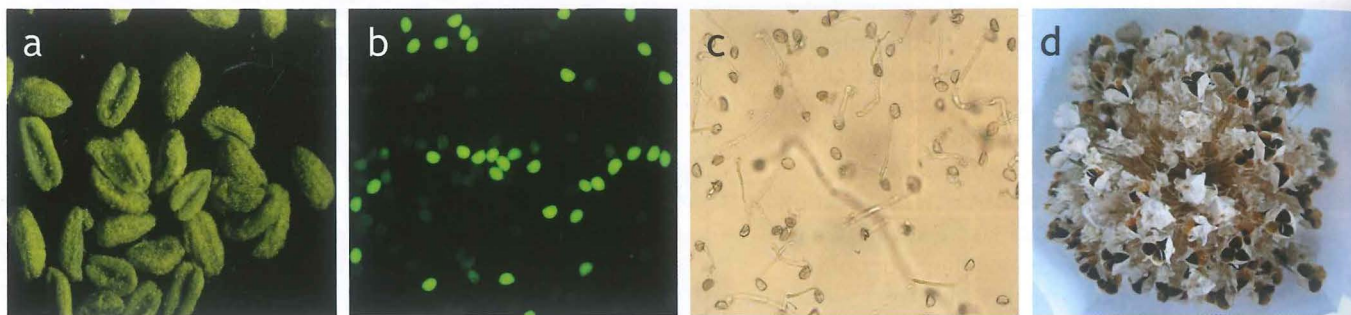

HEROGRA®
ESPECIALES



Fertilizante utilizable en producción vegetal ecológica según R(UE) 2018/848 conforme a la Norma UNE 142500.



+ info

**Foto 5**

Estudios de viabilidad, germinación y producción de semilla con polen conservado a bajas temperaturas. a) anteras de cebolla cv cebolla Dulce de Fuentes tras un proceso de deshidratación; b) test de viabilidad mediante tinción con fluoresceína de diacetato; c) granos de polen germinados; d) producción de semilla.

los parentales, debido a su estructura floral. Una solución a este problema es el desarrollo de líneas doblehaploides (DH), en otras palabras, plantas que contienen la información genética de un gameto duplicada. Existen diferentes métodos de producción de plantas DH, sin embargo, el más eficaz en cebolla es el conocido como “ginogénesis”. Este método consiste en la obtención de una planta a partir de la célula gamética femenina (el óvulo) sin fecundar, mediante técnicas de cultivo *in vitro* (Bohanec, 2009; Fayos y col., 2015). Para ello se introducen los ovarios o las flores completas de cebolla en un medio de cultivo *in vitro* que contiene nutrientes, y en condiciones ambientales adecuadas con luz tenue, 25 °C, humedad alta, y se mantienen en condiciones estériles (**Foto 4a y b**). Al cabo de unos 70-90 días, la plántula emerge del interior de la flor (**Foto 4c, d y e**). Estas plántulas tienen la mitad de la información genética ($n = 8$) de una planta que procede de semilla, y necesitan ser tratadas con un compuesto para duplicarla (**Foto 4 f**), y así obtener la información genética completa ($2n = 16$). Este tipo de plantas se conocen como líneas homocigóticas, fijadas o puras, y son de gran interés en los programas de mejora dado que la información genética es la misma en los dos juegos de cromosomas (**Foto 4g**), y no cambiará a lo largo de los años. Por último, las plantas DH obtenidas mediante el cultivo *in vitro* deben aclimatarse para que puedan crecer en condiciones de campo (**Foto 4h**) y formar semilla (**Foto 4i**). Los mejoradores harán una selección de las mejores plantas para ser utilizadas como parentales de los híbri-

dos. Al ser líneas fijadas su selección es muy eficiente, y en 3 o 4 años se obtienen las mejores líneas puras. En la EEAD y el CITA hemos puesto a punto un método para la producción de plantas DH a partir de variedades comerciales españolas y variedades locales, incluyendo la “Cebolla Dulce de Fuentes” (**Foto 2**). Actualmente, se están llevando a cabo programas de mejora de cebolla basados en la selección de DH en Instituciones públicas o privadas en Estados Unidos, Argentina, y diferentes países de Europa y Asia (Fayos y col., 2015).

Una vez obtenidas las líneas puras parentales para la producción de semilla híbrida es fundamental que la floración de las líneas sea simultánea. Sin embargo, en cebolla con frecuencia hay problemas de asincronía en la maduración de las flores de umbelas de diferentes cultivares. Dichos problemas podrían evitarse mediante una adecuada conservación del polen viable, de modo que éste pudiera ser utilizado en distintas campañas, o incluso, durante varios años. El método más efectivo para la conservación de polen viable durante largos periodos de tiempo (superiores a 10 años) es la *crioconservación*, que consiste en el almacenamiento de polen en nitrógeno líquido (Ganeshan y Rajasekharan, 2005). Sin embargo, el alto coste del equipamiento necesario y de su mantenimiento, así como la necesidad de personal cualificado lo hace inviable para la mayoría de los mejoradores o pequeñas empresas de semillas. Otros estudios en cebolla mostraron que el polen conservado a -18°C mantenía una viabilidad del 40% al cabo de 6 meses mientras que

el conservado a 4-7°C solo mantenía un 10% viabilidad después de un mes (Kwan y col., 1969). En otras especies se ha descrito que la conservación de polen a largo plazo puede realizarse a -80 °C (Wang y col., 2021), pero no hay protocolos disponibles para la conservación de polen a esta temperatura en cebolla. Otro de los factores a considerar cuando se conserva el polen congelado es su contenido de agua, ya que la formación de cristales de hielo puede dañar la estructura del polen. Con el fin de desarrollar un protocolo sencillo, barato y fácilmente reproducible para la conservación de polen de la “Cebolla Dulce de Fuentes”, estamos estudiando el efecto de la deshidratación del polen antes de ser congelado (**Foto 5a**) y el efecto de la temperatura de conservación (4, -20 y -80°C), sobre la viabilidad del polen (**Foto 5b**), los porcentajes de germinación en un medio de cultivo (**Foto 5c**) y la producción de semillas (**Foto 5d**). Hemos conseguido semillas en cruzamientos entre líneas androestériles y polen deshidratado y conservado durante dos años a temperaturas de -20 y -80°C (**Foto 5d**) (Fayos y col., 2022).

Agradecimientos

Ministerio de Economía y Competitividad INIA-FEDER (RTA2015-00042-Co2-01) y el Gobierno de Aragón (Grupos A11-20R y A08-20R).

Bibliografía

Queda a disposición del lector interesado en el correo electrónico: redaccion@editorialagricola.com