



**SOLICITUDE DE ACTUACIONES DA SUBMEDIDA M10.22 DE CONSERVACIÓN DE RECURSOS
XENÉTICOS NA AGRICULTURA/CULTIVOS-CASTES AUTÓCTONAS 2020**

Nº DE PROTOCOLO^(*)

^(*)A encher polo SXEA

1.- ACTUACIÓN PROPOSTA

**ESTUDOS MOLECULARES EN POBOACIÓN AUTÓCTONAS DE RAIGRÁS (*Lolium spp.*)
PERTENCENTES O BANCO DE XERMOPLASMA DO CIAM (FASE II)**

2.- ENTIDADE SOLICITANTE

Centro Institucional/Entidade Colaboradora:

CENTRO DE INVESTIGACIÓNS AGRARIAS DE MABEGONDO (CIAM)

Endereço: Km 7, Estrada AC-542, Betanzos a Mesón do Vento KM 7,5

C. Postal: 15318	Concello: Abegondo	Provincia: A Coruña
------------------	--------------------	---------------------

Telf.: 881881801	Fax: 881881800	Correo electrónico: ingacal@xunta.gal
------------------	----------------	---------------------------------------

3.- XUSTIFICACIÓN DA ACTUACIÓN PROPOSTA

Ano 2020:

Dende fai máis de 40 anos lévase realizando no CIAM unha importante labor de conservación e utilización dos recursos fitoxenéticos das especies pratenses da España húmida.

Os traballos feitos o longo dos anos (de recolección, multiplicación e caracterización), propiciaron a creación dalgunhas variedades comerciais con base xenética autóctona.

Grazas ás labores realizadas, consérvanse en Galicia unha colección de sementes dos principais xéneros de especies pratenses (*Lolium*, *Trifolium*, *Agrostis*, *Festuca*, *Poa*, *Dactylis*, *Lotus*, *Medicago*....). No banco de xeroplasmia de especies pratenses do CIAM (A Coruña) consérvase unha colección única de referencia de especies pratenses colleitadas principalmente en Galicia. Actualmente o número de accesións existentes é de máis de 1500.

É esencial manter activas as coleccións de pratenses existentes nos bancos de xeroplasmia, así como completar e seguir os estudos feitos ata agora, e ampliar a caracterización utilizando técnicas de caracterización molecular.

Ata agora a maior parte dos traballos que se fixeron coas coleccións de xeroplasmia foron para recolección, multiplicación e subministro de sementes e para caracterización agronómica





e morfolóxica das mesmas.

Cómpre empregar técnicas de caracterización molecular nas diferentes poboacións para aportar nova información mediante datos moleculares que poden resultar moi útiles para a diferenciación das mesmas xunto coa caracterización agromorfolóxica.

Durante o ano 2019 iniciáronse no CIAM estudos moleculares empregando marcadores moleculares microsatélites (SSRs) en 28 poboacións de raigrás (das cais: 19 naturais e 9 comerciais), polo que este ano preténdese completar estes estudos.

BIBLIOGRAFÍA

Diekmann K., Hodgkinson T.R., Barth S. 2012. New chloroplast microsatellite markers suitable for assessing genetic diversity of *Lolium perenne* and other related grass species. Annals of Botany 110, 1327-1339.

Kindiger B. 2006. Cross-species amplification of *Lolium* microsatellites in *Poa* ssp. Grassland Science 52, 105-115.

López Díaz J.E., Oliveira Prendes J.A., González Arráez E. 2010. Los recursos fitogenéticos de especies pratenses en Galicia. Pastos, 40 (1), 5-27.

Schuelke M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. Nature Biotechnology 18, 233-234.

Studer B., Köliker R., Muylle H., Asp T., Frei U., Roldán-Ruiz I., Barre P., Tomaszenowski C., Meally H., Barth S., Skøt L., Armstead I.P., Dolstra O., Lübbertsdet T. 2010. EST-derived SSR markers used as anchor loci for the construction of a consensus linkage map in ryegrass (*Lolium* spp.) BMC Plant Biology 10, 177

<http://ciam.gal/sp/index/?r=recursosfitoxeneticos.pratenses>





4.- OBXECTIVOS DA ACTUACIÓN PROPOSTA

Ano 2020:

- Estudos moleculares de poboacións de raigrás (*Lolium spp.*) pertencentes á colección de especies pratenses do Banco de Xermoplasma do CIAM con marcadores SSRs .

5.- METODOLOXÍA

Ano 2020:

Preténdese continuar cos estudos moleculares de raigrás iniciados en 2019 coa finalidade de detectar diferencias xenéticas entre as distintas poboacións a estudio.

No 2019 seleccionáronse 19 poboacións naturais de raigrases e 9 poboacións comerciais como control.

En vista dos resultados preliminares obtidos durante o ano 2020, precisase ampliar os estudos iniciais coa fin de obter uns datos máis robustos: ampliando o número de marcadores SSRs (debido a característica de homoxenidade presentado por algúns deles), ampliando o número de individuos a estudar en cada unha das poboacións analizadas e tentarase aumentalo número de poboacións a estudio.

Procedemento:

- a) Sementaranse as plantas de raigrás nas bandexas de alvéolos no invernadoiro do CIAM e recollerase o material vexetal foliar das diferentes poboacións de raigrás.

Toma de mostras:

Colleranse ó azar varias follas novas procedentes de cada unha das plantas da variedade a estudio.

Estudaranse 10-20 individuos por poboación.

As mostras vexetais desecaranse empregando xel de sílice laranxa e manteranse secas a temperatura ambiente ou conservaranse conxeladas a -20°C ata o seu uso.

- b) Extraccións e cuantificación dos DNA xenómicos do material vexetal.

Empregarase preferentemente un kit comercial para a extracción do DNA, o cal se resuspenderá en auga milliQ estéril. Cuantificaránse os DNAs espectofotométricamente no nanodrop e manteranse conxelados ata o seu uso.

- c) Realización de probas moleculares (elección de primers axeitados, realización e optimización de PCRs...).

Testaranse o número necesario para dispor dun mínimo de 10 marcadores microsatélites (SSR) polimórficos e que estén, a ser posible, en distintos grupos de ligamento.

- d) Análise dos fragmentos a estudio.

- e) Análise de resultados para obter a diversidade xenética existente entre as poboacións estudiadas.



6.- PLAN DE DIVULGACIÓN

Reunións:

Ano 2020

Prevese a presentación dos resultados nalgún congreso/xornada

Cursos:

Ano 2020

Demostracións:

Ano 2020:

Publicacións:

Ano 2020:

Unha vez rematada a actuación, tentarase publicalos resultados acadados en revistas científicas

Outras:

Ano 2020:

Valoraranse segundo os resultados obtidos. Exemplo: presentación en congresos, rexistros...

