ANEXO I

SOLICITUDE DE ACTUACIÓNS 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 POBOACIÓNS NATURAIS DE TREVO BRANCO (*Trifolium repens* L.) PERTENCENTES AO BANCO DE XERMOPLASMA DO CIAM

2.- ENTIDADE SOLICITANTE		
Centro Institucional/Entidade Colaboradora: CENTRO DE INVESTIGACIÓNS AGRARIAS DE MABEGONDO		
Enderezo: 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 (Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo) unha importante labor de conservación e utilización dos recursos fitoxenéticos das especies pratenses da España húmida.

Grazas ás labores realizadas, consérvanse no CIAM unha colección de sementes dos principais xéneros de especies pratenses (*Lolium*, *Trifolium*, *Agrostis*, *Festuca*, *Poa*, *Dactylis*, *Lotus*, *Medicago*...) e doutras especies de interese medioambiental chegando a abarcar actualmente 101 especies, e que constitúe unha colección única de referencia de especies pratenses colleitadas principalmente en Galicia (López *et al*., 2010). Actualmente o número de accesións distintas existentes é de máis de 1.600, con duplicados do material considerado estratéxico, existindo actualmente más de 2.300 mostras.

O uso agronómico das leguminosas está moi estendido nas zonas temperado-húmidas de España, constituíndo un compoñente importante nos pastos e nas praderas tanto para sega como para pastoreo.

O trevo branco (*Trifolium repens* L.) é unha especie perenne de ciclo invernal orixinaria de Europa. Atópase presente en toda a Península Ibérica. Actualmente é unha das leguminosas perennes máis frecuentes e cultivadas. A súa utilización agronómica é fundamentalmente para pastoreo, ben en praderas bífitas en mixtura con raigrás inglés ou polifitas (Piñeiro, 1992; Muslera e Ratera 1991). Nas súas raíces desenvólvense nódulos simbióticos nos que proliferan bacterias nitrificantes do xénero *Rhizobium*. Estas bacterias presentan a capacidade de fixar importantes cantidades de nitróxeno atmosférico e transmitilo ao solo. O seu emprego en monocultivo é escaso por constituír unha forraxe algo desequilibrada e poder causar meteorismo nos ruminantes. É un vexetal moi resistente ás pisadas, e dado que as defoliacións só afectan as follas e aos pedúnculos florais, o rebrote é rápido ao non quedar danados os puntos de crecemento. O seu hábito estolonífero fai que sexa unha leguminosa de excelente crecemento e adaptación ao pastoreo en zonas temperadas de todo o mundo.

O mantemento das coleccións activas existentes nos bancos de xermoplasma é un traballo esencial para os novos retos da agricultura moderna, así como completar e seguir cos estudos feitos ata agora, e ampliar a caracterización utilizando técnicas de caracterización molecular. Ata agora a maior parte dos traballos que se fixeron con esta colección foron para recolección, multiplicación, caracterización agronómica e subministración de sementes. Pero non hai ningún estudo molecular das mesmas.

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

Esta actuación centrarase no estudo molecular de accesións de trevo branco existentes no banco de xermoplasma do CIAM, empregando marcadores de tipo microsatélite (SSRs).

BIBLIOGRAFÍA

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.

Muslera E. & Ratera C. 1991. Praderas y Forrajes: Producción y aprovechamiento. 2ª Edición. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.

Piñeiro, J. 1992. Mezclas pratenses para la España húmeda. Hojas divulgadoras, Núm 8/92 HD. Centro de investigaciones Agrarias de Mabegondo. La Coruña.

4.- OBXECTIVOS DA ACTUACIÓN PROPOSTA
Ano 2020: Estudos moleculares en poboacións naturais de trevo branco (*Trifolium repens*) pertencentes á colección de especies pratenses do Banco de Xermoplasma do CIAM con marcadores SSRs.

5.- METODOLOXÍA

Ano 2020:

Realizaranse estudos moleculares coa finalidade de detectar diferencias xenéticas entre as distintas poboacións a estudo. Empregarase un mínimo de 10 poboacións naturais de trevo branco que amosaron un bo comportamento agronómico. Tamén se incluirán variedades comerciais como control.

Procedemento:

a) Sementaranse as accesións e variedades en bandexas de alvéolos no invernadoiro do CIAM. Cando as plántulas estean algo crecidas, recollerase o material vexetal foliar das diferentes poboacións de trevo.

Para a toma de mostras colleranse ao azar 3-4 follas novas procedentes de cada planta.
Estudaranse 10-20 individuos por poboación.
As mostras vexetais desecaranse empregando xel de sílice e manteranse secas a temperatura ambiente ou conservaranse conxeladas a -200C até o seu uso.

b) Extraccións e cuantificación do DNA xenómico do material vexetal.

Empregarase preferentemente kits comerciais para a extracción do DNA, o cal resuspenderase en auga milliQ estéril. Cuantificaranse os DNAs espectofotométricamente no nanodrop e manteranse conxelados até 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 estean, a ser posible, en distintos grupos de ligamento.

d) Análise dos fragmentos a estudo.

e) Análise de resultados para obter a diversidade xenética existente entre as poboacións estudadas

6.- PLAN DE DIVULGACIÓN
Reunións: Ano 2020 Xuntanzas do equipo investigador cos servizos técnicos
Cursos: Ano 2020
Demostracións: Ano 2020:
Publicacións: Ano 2020: Prevese a presentación dos resultados na revista Afriga e na revista de divulgación Vaca Pinta. Tamén se prevé a presentación nun congreso e nunha revista científica a determinar. Os resultados finais se publicarán na web do CIAM (www.ciam.gal).
Outras: Ano 2020: