

 XUNTA DE GALICIA CONSELLERÍA DO MEDIO RURAL	 GOBIERNO DE ESPAÑA MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN	 Fondo Europeo Agrícola de Desenvolvemento Rural: Europa inviste no rural	CIRCULAR Nº1/2021 CONSERVACIÓN DE RECURSOS XENÉTICOS EN AGRICULTURA	M10.2.2
---	---	---	--	----------------

ANEXO I

SOLICITUDE DE ACTUACIÓNS DA SUBMEDIDA M10.2.2 DE CONSERVACIÓN DE RECURSOS XENÉTICOS NA AGRICULTURA/CULTIVOS-CASTES AUTÓCTONAS 2021

Nº DE PROTOCOLO(*)	
---------------------------	--

(*) A encher polo SXEA

1.- ACTUACIÓN PROPOSTA
Emprego de marcadores xenéticos moleculares para a selección de parenterais con xenes de ananismo, e a súa utilización en retrocruces con trigos galegos.

2.- ENTIDADE SOLICITANTE		
Centro Institucional/Entidade Colaboradora: CIAM		
Enderezo: Km 7, Estrada AC-542, Betanzos a Mesón do Vento		
C. Postal:15318	Concello:Abegondo	Provincia:A Coruña
Tfn:881 881 852	Fax:	Correo electrónico: luis.urquijo.zamora@xunta.gal

3.- XUSTIFICACIÓN DA ACTUACIÓN PROPOSTA
<p>A utilización de castes autóctonas de trigo para facer pan galego artesán ven sendo unha práctica común entre os panadeiros galegos desde fai moitas décadas. Este uso está condicionado á cada vez máis reducida produción de trigos autóctonos, a pesar dos esforzos acometidos no CIAM-INGACAL para tratar de frear esta ameaza. O rexistro das variedades autóctonas de trigo galego “Calobre” e “Caaveiro”, tratan de revertir a ameaza de erosión xenética das castes autóctonas, e que os panadeiros poidan utilizar trigo galego con unha trazabilidade total. A pesar de todo, no futuro esta ameaza non desaparecerá, xa que estas variedades autóctonas ten a metade ou a terceira parte do rendemento dunha variedade comercial de talla baixa. Por este motivo, en 2014 comezouse un programa de mellora xenética co obxectivo de conseguir variedades que manteñan máis do 98% da xenética das variedades autóctonas, pero que teñan os xenes de ananismo que lle confiren talla baixa, e polo tanto a posibilidade de obter máis rendemento. A primeira parte consistiu na cruza das variedades galegas “Calobre” e “Caaveiro”, con cinco con cinco variedades comerciais de talla baixa. Na segunda parte, realizouse o retrocruzamento con Calobre e Caaveiro das liñas que tiveran o xen de ananismo, durante cinco anos consecutivos. A última parte consiste en realizar dous autofecundacións para conseguir a homocigose para o xen de ananismo, e unha boa uniformidade na liña final.</p> <p>Este proceso é moi largo (10 anos) e de moito traballo. Comezouse a realizar a selección de plantas segundo a súa altura, para encontrar os xenes de ananismo que buscamos. Pero desta forma, se detectaron erros debido a variabilidade ambiental da altura das plantas, ademais do factor xenético, polo que se pode errar na selección das plantas a cruzar.</p>



Polo tanto, e necesario utilizar marcadores moleculares que nos aforren moito traballo, e eliminemos no proceso calquera erro que nos fai perder anos de cruzamentos. Estes marcadores tamén nos permiten traballar con máis plantas, xa que aquelas que no momento do afillado nos presenten os alelos dos xenes que buscamos, as podemos eliminar, e cruzar só as plantas que nos interesan.

En maio de 2014 e en xuño de 2015, fixéronse cruzamentos das variedades autóctonas “Callobre” e “Caaveiro” con cinco variedades comerciais de talla baixa, obténdose 31 espigas F1. Posteriormente de 2015 a 2019, en invernadoiro, fixéronse 5 retrocruces sucesivos cos parenterais masculinos recorrentes (Callobre e Caaveiro) coas plantas F1 iniciais. Tamén en 2019 conseguíronse facer as primeiras autofecundacións de plantas que xa acabaron o seu ciclo de retrocruzamentos e polo tanto conseguindo mais do 97% do xenotipo autóctono (Callobre o Caaveiro).

En outubro de 2019, elixíronse 101 liñas procedentes de espigas retrocruzadas (BC5) en febreiro de 2019, para a seu posterior autofecundación en febreiro 2020 para conseguir homocigotos para el gen Rht mutante. Polo tanto se duplicou o esforzo feito no invernadoiro nesta fase de autofecundacións. Ademais se escolleron 20 liñas procedentes de espigas retrocruzadas (BC2 a BC5) en febreiro de 2019 ou anteriores.

En outubro de 2020, escolléronse 41 liñas procedentes de plantas autofecundadas en febreiro de 2020. Todas as liñas seleccionadas tiñan o Rht mutante en heterocigose, polo que aproximadamente o 25% das plantas que xurdan da semente seleccionada, producirá plantas semienanas con Rht mutante en homocigose. A conseguinte autofecundación das plantas semienanas, permitirá fixar e homoxeneizar a liña resultante que constituirá un novo material parental, que poderá ser elixido para formar parte dun novo cultivar, e seguir o procedemento de rexistro na “Oficina Española de Variedades Vegetales”. Tamén en outubro de 2020, escolléronse sete liñas BC5 para a súa primeira autofecundación, e catro liñas BC4 e 1 BC1 que se retrocruzarán con Callobre e Caaveiro.

Ademais intentarase facer novos cruzamentos con outras variedades comerciais.

Estas variedades autóctonas obtidas poderanse utilizar como material para facer pan galego dentro da I.X.P Pan Galego, xa que o Prego de Condicións da I.X.P Pan Galego publicado na páxina web da Consellería de Medio Rural dice: *“Para tratar de minimizar este problema (talla alta do trigo), están a levarse a cabo traballos de mellora xenética co obxectivo de obter variedades de menor talla que manteñan as características organolépticas do “trigo país”. No seu caso, poderán ser autorizadas estas variedades como “Trigo país” aínda que a súa talla sexa inferior á antes referenciada”*.



4.- OBXECTIVOS DA ACTUACIÓN PROPOSTA

Ano 2021:

- Emprego dos marcadores xenéticos moleculares para a selección de liñas BCS1 e BCS2 que posúan os xenes de ananismo en heterocigose e homocigose. Os últimos poderán ser liñas novas definitivas, e as que estean en heterocigose, poderán autofecundarse para conseguir outras liñas.
- Emprego de SDS-PAGE e ACID-PAGE para avaliar a calidade panadeira e caracterizar as novas liñas de trigos semienanos, e poder diferencialas dos seus proxenitores.

5.- METODOLOXÍA

Para levar a cabo a Selección Asistida por Marcadores (MAS) e necesario coñecer a secuencia que levan os parenterais a estudo. Neste estudo temos un parental recorrente, que son as liñas galegas de trigo Calobre e Caaveiro, e o parental donante que está representado por diversas liñas comerciais que posúen a característica de que son de talla baixa, e levan no seu xenoma unha mutación que o fai posible. No caso dos parentais galegos posúen o xen Rht-B1a e Rht-D1a, que son os alelos silvestres que dotan de gran altura ás plantas. No caso das variedades comerciais Paledor e Gazul, posúen o xen mutante Rht-D1b, que lles proporciona altura menor que o alelo silvestre. As variedades Nogal y A.Nick, posúen o xen mutante Rht-B1b, que lles proporciona tamén altura menor que o alelo silvestre.

Mediante MAS sábese se a planta va a ser de tamaño reducido cando está en estadio de plántula (3 follas), e non é necesario esperar ata o fin do cultivo. Ademais, este carácter de altura da planta, resulta ser moi variable e depende tanto da dose do xen (homocigose o heterocigose), como do alelo ou alelos que posúa, e a fertilidade da terra onde medre.

Unha vez que se sabe o alelo que posúen os parenterais, utilízanse os primers o oligonucleotidos existentes no mercado (ou pódense deseñar uns novos) para detectar e amplificar por PCR as rexións do xenoma onde se encontran os ditos xenes. Os produtos resultantes da PCR se corren en xeles de agarosa para visualizar as bandas que confirman o alelo do xen que ten a planta mostrada.

Unha vez analizadas as plantas, as que non ten o xen de ananismo se descartan, e as que o teñen se volven a retrocruzar o autofecundar (se xa se fixeron 5 retrocruces). Na última fase de autofecundación, a descendencia analízase e descártanse todas aquelas plantas que non sexan homocigotas para o xen de ananismo, para iso a mostra da planta debe dar positivo para o xen de ananismo, e negativo para o xen silvestre. De esta maneira, confirmase a homocigose total da planta con respecto ó xen ananizante que era o obxectivo final.

Para determinar si temos a mesma calidade de gran nos últimos retrocruces BC5, con respecto ós parenterais autóctonos, usaremos a técnica de electroforese SDS e xeles de acrilamida, para estudar as gluteninas HMW. Ademais, pola técnica electroforética ACID-PAGE, se caracterizarán as novas liñas de trigos semienanos.

Ano 2021:

Durante este ano se levará a cabo un cultivo (outono) e se realizará a selección cos marcadores moleculares para identificar aquelas plantas que posúan unha copia do xen de redución de talla, seguindo o mesmo protocolo: toma



de mostra de folla de plántula; extracción de ADN; amplificación mediante PCR empregando os marcadores moleculares; confirmación da amplificación mediante xeles de agarosa; análise dos resultados dos marcadores, directamente do xel de agarosa, xa que a presenza ou ausencia de bandas indica se a planta ten o xen silvestre ou o xen mutante.

As novas liñas semi-enanas homocigotas se lles fará un análise SDS-page e ACID-page, para analizar a calidade do gran respecto o parental autóctono, e para coñecer o patrón de gliadinas que ten, que sirven ademais para identifica las liñas.

6.- PLAN DE DIVULGACIÓN

Reunións:

Ano 2021:

Reunión con representantes de FEGAPAN, e agricultores do sector, para facerlles chegar os resultados obtidos

Cursos:

Ano 2021:

Demostracións:

Ano 2021:

Demostración do procedemento de cruces en invernadoiro a técnicos e agricultores do sector, para facerlles chegar os resultados obtidos.

Publicacións:

Ano 2021:

Se publicará en www.ciam.gal, y www.campogalego.es, os resultados da experiencia

Outras:

Ano 2021:

