



ANEXO I

SOLICITUDE DE ACTUACIÓNS DA SUBMEDIDA M10.22 DE CONSERVACIÓN DE RECURSOS XENÉTICOS NA AGRICULTURA/CULTIVOS-CASTES AUTÓCTONAS 2021

Nº DE PROTOCOLO^(*)

(*) A encher polo SXEA

1.- ACTUACIÓN PROPOSTA

ESTUDOS MOLECULARES DE VARIEDADES AUTÓCTONAS DE HORTA DE GALICIA

2.- ENTIDADE SOLICITANTE

Centro Institucional/Entidade Colaboradora:

CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS DE MABEGONDO

Endereço: 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: agacal@xunta.gal
------------------	----------------	--------------------------------------

3.- XUSTIFICACIÓN DA ACTUACIÓN PROPOSTA

Ano 2021:

Galicia é unha rexión que destaca tanto pola alta produción de cultivos hortícolas, como pola elevada calidade dos mesmos. Entre os cultivos de horta en Galicia, hai que salientar os tomates e os pementos.

No Banco de Xermoplasma do Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo, CIAM, consérvanse ecotipos de tomates e pementos autóctonos.

No CIAM estanse a levar a cabo múltiples estudios de caracterización agromorfolóxica e tamén moleculares en diversos cultivos de horta.





O uso de marcadores moleculares é cada vez máis empregado debido a reproducibilidade dos resultados obtidos e a obxectividade dos mesmos, os cales non varían segundo o estadio/idade/condicións en que se atope o vexetal (individuo) a analizar, algo que si sucede cos marcadores morfolóxicos.

Isto é sumamente importante para diferenciar ben as variedades de interese. Así, as análises moleculares cada vez son más demandadas en probas xudiciais fronte a fraudes, como metodoloxía de control, ou para rexistros de variedades.

Interésanos coñecer, mediante estudos xenéticos, as diferencias moleculares que poidan existir entre as distintas variedades de tomates autóctonos e entre as diferentes variedades de pementos autóctonos.

Esta actuación centrarase no estudo molecular, empregando marcadores de tipo microsatélite (SSRs), dalgunhas das variedades de tomates e pementos autóctonos galegos.

En primeiro lugar realizarase unha revisión dos datos xa existentes, e máis da bibliografía sobre o tema, para determinar que marcadores microsatélites son os más axeitados para realizar a abordaxe molecular e poder detectar diferencias entre os ecotipos/variedades de tomate e pemento a estudio.

Sementaranse as tomateiras e pementeiras de interese nos invernadeiros do CIAM coa fin de obter o material vexetal de partida.

Posteriormente levaranse a cabo as probas moleculares para estudar as diferencias xenéticas que poidan diferenciar as variedades de tomate de interese, así coma as de pemento.



BIBLIOGRAFÍA

Benor S., Zhang M., Wang Z., Zhang H. 2008. Assessment of genetic variation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) inbred lines using SSR molecular markers. *J. Genet. Genomics* 35, 373–379.

Cebolla-Cornejo J., Roselló S., Nuez F. 2013. Phenotypic and genetic diversity of Spanish tomato landraces. *Scientia Horticulturae* 162, 150–164.

Meng Fan-Juan, Xu Xiang-Yang, Huang Feng-Lan and Li Jing-Fu. 2010. Analysis of Genetic Diversity in Cultivated and Wild Tomato Varieties in Chinese Market by RAPD and SSR. *Agricultural Sciences in China* 9 (10): 1430-1437.

Parisi M., Aversano R., Graziani G., Ruggieri V., Senape V., Sigillo L., Barone A. 2016. Phenotypic and molecular diversity in a collection of 'Pomodoro di Sorrento' Italian tomato landrace. *Scientia Horticulturae* 203, 143–151.

Rivera Martínez A., Taboada Arias A. 2013. Trabajos de selección en cultivares tradicionales de tomate. LXIII Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura. Elche, 27-31 Mayo 2013.

Rivera Martínez A., Monteagudo A.B., Igartua Arregui E., Taboada Arias A., García Ulloa A., Pomar F., Riveiro-Leira M., Silvar C. 2016 Assessing genetic and phenotypic diversity in pepper (*Capsicum annuum* L.) landraces from North-West Spain. *Scientia Horticulturae* 203, 1-11.

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

Shirasawa K., Asamizu E., Fukuoka H., Ohyama A., Sato S., Nakamura Y., Tabata S., Sasamoto S., Wada T., Kishida Y., Tsuruoka H., Fujishiro T., Yamada M., Isobe S. 2010. An interspecific linkage map of SSR and intronic polymorphism markers in tomato. *Theor Appl Genet* 121, 731–739.

Taboada Arias A., Rivera Martínez A., Riveriro Leira M. 2015. Variedades autóctonas de tomates de Galicia. Xunta de Galicia. Consellería do Medio Rural e do Mar.

Terzopoulos P.J., Bebeli P.J. 2008. DNA and morphological diversity of selected Greek tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Scientia Horticulturae* 116, 354–361.

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





4.- OBXECTIVOS DA ACTUACIÓN PROPOSTA

Ano 2021:

Realizar estudos moleculares empregando marcadores moleculares microsatélites (SSRs) en variedades de tomates e pementos galegos.

5.- METODOLOXÍA

Ano 2021:

Levaranse a cabo estudos moleculares coa finalidade de detectar diferencias xenéticas entre as distintas variedades de horta a estudo.

Estudiaranse 16 variedades de tomate e 11 variedades de pemento con sementes conservadas no CIAM.

Tarefas a realizar:

1- Revisión dos datos xa existentes e da bibliografía sobre a temática proposta.

2- Sementaranse as 16 variedades de tomate autóctono galego e as 11 variedades de pementos autóctonos galegos nos invernadoiros do CIAM-AGACAL co fin de obter plántulas (texidos vexetais) para a obtención dos ácidos nucleicos.

3- Recollerase o material vexetal e procederase a súa conxelación e mantemento a -20°C, ou desecarase en xel de sílice, para a realización posterior das extraccións do ADN xenómico.

Toma de mostras vexetais:

Colleranse ó azar follas novas procedentes de cada un dos individuos da variedade a estudo, obténdoas de plantas independentes (analizaranse de 5 a 10 individuos por ecotipo).

Conservaranse a -20°C ata o seu uso ou desecadas en xel de silicio.

4- Extraccións de DNA xenómico do material vexetal obtido previamente.

Empregarase preferentemente kits comerciais para a extracción do ADN, o cal se resuspenderá en auga ultrapura estéril.

Cuantificaranse os DNAs espectofotométricamente no nanodrop e manterase conxelados ata o seu uso.





5- Selección de marcadores moleculares e amplificación dos ácidos nucleicos.

Seleccionaranse os *primers* axeitados para amplificar os ADNs.

Realizaranse as PCRs e optimizaranse as condicións das mesmas.

Deséxase analizar 15 marcadores microsatélites (SSR) polimórficos e que estén, a ser posible, ben repartidos polo xenoma.

6- Secuenciación e Análise dos fragmentos obtidos.

7- Análise dos resultados acadados para coñecer a diversidade xenética existente entre as variedades estudadas.

6.- PLAN DE DIVULGACIÓN

Reunións:

Ano 2021

Prevese a realización de distintas reunións (preferentemente telématicas) con outros investigadores para a planificación e discusión de resultados.

Cursos:

Ano 2021

Demostracións:

Ano 2021:

Publicacións:

Ano 2021:

Tentaranse publicar los resultados acadados nunha revista científica (ano 2022).

Outros:

Ano 2021:

Prevese a presentación dos resultados nalgún congreso/xornada (ano 2021 ou 2022)

