

ANEXO I

SOLICITUDE DE ACTUACIÓN DA SUBMEDIDA M10.22 DE CONSERVACIÓN DE RECURSOS
XENÉTICOS NA AGRICULTURA/CULTIVOS-CASTES AUTÓCTONAS 2019Nº DE PROTOCOLO^(*)^(*) A encher polo SXEA

1.- ACTUACIÓN PROPOSTA

CONFIRMACIÓN DE CASTES DE MACEIRAS DO BANCO DE XERMOPLASMA DO CIAM

2.- ENTIDADE SOLICITANTE

Centro Institucional/Entidade Colaboradora:
CENTRO DE INVESTIGACIÓNS AGRARIAS DE MABEGONDO

Enderezo: 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 2019:

O Banco de Xermoplasma do CIAM foi arrasado por un tornado en decembro de 2017, polo que para a reposición da colección de maceiras procedeuse ó inxerto de tódalas accesións obténdose unha serie de plantas que actualmente estanse a cultivar no viveiro do CIAM.

Para garantir que non sucederon erros no proceso de produción das plantas nai, e que tódalas accesións diferentes, dende o punto de vista xenético, están representadas na colección, preténdese verificar a identidade varietal destas plantas empregando marcadores moleculares de tipo microsatélite.

Nas plantas de reprodución vexetativa é frecuente que, durante o proceso de multiplicación, transmítanse algúns patóxenos como virus ou fitoplasmas. Estes poden permanecer latentes ou manifestar síntomas pouco perceptibles visualmente, pero teñen indubidabelmente unha repercusión económica.

Con esta actuación preténdese coñecer o estado sanitario da colección de maceiras no referido á presenza de fitoplasmas "*Candidatus Phytoplasma mali*" xa que, ademais da súa importancia económica, trátase dun patóxeno de cuarentena incluído na lista A2 da EPPO

(European and Mediterranean Plant Protection Organization).

As árbores frutais da familia das Rosaceae poden ser seriamente magoadas por fitoplasmas do grupo Apple Proliferation (grupo AP 16SrX). O grupo AP inclúe “Candidatus Phytoplasma mali”, o cal causa a enfermidade Apple Proliferation (AP), “Candidatus P. prunorum”, asociado con European Stone Fruit Yellows (ESFY) e “Candidatus P. pyri”, asociado con Pear Decline (PD) (Seemüller & Schneider, 2004; Marcone e col., 2010). Aínda que a infección “Candidatus P. mali” ocorre principalmente nas variedades de maceiras, foi identificado tamén en outras árbores, coma son na pereira europea (Pyrus communis) e a asiática (Pyrus pyrifolia) (Lee e col., 1995; Del Serrone e col., 1998; Seemüller & Schneider, 2004; Mehle e col., 2007).

Os fitoplasmas son parásitos intracelulares que causan diferentes danos nas árbores. Algunha da sintomatoloxía típica ocasionada por estos parásitos son: follas encarnadas, clorosis, filodios, decaemento da planta en xeral...)

As maceiras poden estar danadas por fitoplasmas. Neste traballo tentárase identificar se as maceiras que se están a cultivar no viveiro do CIAM están afectadas por “Candidatus Phytoplasma mali” (“Ca. P. mali”), causante da proliferación da mazá (AP).

Tentárase levar a cabo este último estudio en diferentes órganos da planta e en diferente época do ano (tempada).

Durante este ano (20019) comprobarase a existencia de “Ca. P. mali” en brotes primaverais de maceiras.

Ano 2020:

Neste ano analizarase a existencia de “Ca. P.” nas raíces das maceiras durante a tempada de inverno e compararanse os resultados obtidos con respecto os brotes primaverais.

BIBLIOGRAFÍA

Del Serrone P., La Starza S., Krystai L., Kolber M., Barba M.1998. Occurrence of apple proliferation and pear decline phytoplasmas in diseased pear trees in Hungary. Journal of Plant Pathology, 80 (1), 53-58.

European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO)/Organization Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes (OEPP). 2017. Diagnostics. PM 7/62 (2) “Candidatus Phytoplasma mali”, “Ca P. pyri” and “Ca P. prunorum”). Bulletin OEPP/EPPO

Bulletin 47, 146-163.

Lee I-M., Bertaccini M., Vibio M., Gundersen D.E. 1995. Detection of Multiple Phytoplasmas in Perennial Fruit Trees with Decline Symptoms in Italy. *Phytopathology* 85(6), 728-735.

Marcone M., Jarausch B, Jarausch W. 2010. Candidatus *Phytoplasma prunorum*, the causal agent Of European stone fruit yellows: An overview. . *Journal of Plant Pathology*, 92(1), 19-34.
N. Mehle

Mehle N, Brzin J., Boben J., Hren M., Fran J., Petrovic N., e col. 2007. First report of 'Candidatus *Phytoplasma mali*' in *Prunus avium*, *P. armeniaca* and *P. domestica*. *Plant Pathology* 56, 721.

Pereira-Lorenzo S., Ramos-Cabrer A.M., Ferreira V., Díaz-Hernández M.B., Carnide V., Pinto-Carnide O., Rodrigues R., Velázquez-Barrera M.E., Rios-Mesa D., Ascasíbar-Errasti J., Castro I. 2018. Genetic diversity and core collection of *Malus domestica* in northwestern Spain, Portugal and the Canary Islands by SSRs. *Scientiae Horticulturae* 240, 49-56.

Ramos-Cabrer A.M., Ferreira V., Díaz-Hernández M.B., Pereira-Lorenzo S. 2007. Morphology and microsatellites in Spanish apple collections. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82(2), 257-265.

Santesteban L.G., Miranda C., Munárriz A., Laquidáin L.J., Royo J.B. Relación entre la variabilidad S-Alélica y la diversidad genética estimada con 10 SSR en la colección incluída en el Banco de Germoplasma de manzano de la Universidad Pública de Navarra.

Seemüller E. & Schneider B. 2004. 'Candidatus *Phytoplasma mali*', 'Candidatus *Phytoplasma pyri*' and 'Candidatus *Phytoplasma prunorum*', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *Int J Syst Evol Microbiol.*, 54(Pt 4), 1217-1226

4.- OBXECTIVOS DA ACTUACIÓN PROPOSTA

Ano 2019:

1-Verificala identidade varietal das maceiras conservadas en viveiro para repoñelo banco de xermoplasma de maceiras do CIAM, destruído polo tornado acontecido en decembro de 2017.

2-Determinala existencia de fitoplasmas nos brotes primaverais das maceiras que se atopan no viveiro do CIAM.

Ano 2020:

1-Determinala existencia de fitoplasmas nas raíces invernais das maceiras que se atopan no viveiro do CIAM.

2- Análise da presenza/non presenza dos fitoplasmas e variacións posibles atendendo os texidos vexetais estudados.

5.- METODOLOXÍA

Ano 2019:

Procedemento:

1. Recolección dos brotes primaverais das plantas de maceira de interese. O material gardarase conxelado a -20°C ata a súa extracción molecular.
2. Extraccións do DNA do material conxelado previamente e cuantificación dos mesmos.
3. Amplificación por PCR (Reacción en Cadea da Polimerasa) do material a estudo, empregando marcadores microsátélites (SSR) coa fin de obtelo obxectivo 1 (identidade varietal das maceiras) e o kit comercial no caso de obtelo obxectivo 2 (determinación da existencia de fitoplasmas).
4. Análise dos fragmentos SSR coa fin de logralo obxectivo 1.
5. Dixestión dos fragmentos obtidos co kit comercial no paso 3 coa fin de de determinala existencia de fitoplasma nos brotes primaverais das diferentes maceiras a estudo (obxectivo 2).
6. Análise dos resultados obtidos no punto 4 e 5 para o cumprimento dos obxectivos fixados para o ano 2019.

Ano 2020:

Procedemento:

1. Recolección das raíces invernais das maceiras a estudo e conxelación das mesmas a -20°C ata a extracción do DNA.
2. Extraccións e cuantificación dos DNAs.
3. Realizacións das PCRs cun kit específico para a detección de "Ca. P.".
4. Dixestión dos fragmentos obtidos no paso 3 coas enzimas de restricción adecuadas para a identificación dos fitoplasmas.
5. Análise dos resultados obtidos para acadalos obxectivos establecidos para o 2020.

6.- PLAN DE DIVULGACIÓN

Reunións:

Ano 2019:

Ano 2020:

Cursos:

Ano 2019:

Ano 2020:

Demostracións:

Ano 2019:

Ano 2020:

Publicacións:

Ano 2019:

Ano 2020:

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

Outras:

Ano 2019:

Ano 2020:

Valoraranse segundo os resultados obtidos. Exemplo: presentación dos resultados en congresos.