

40

TÉCNICA

INFLUENCIA DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA MEJORA GENÉTICA DE PLANTAS

Sociedad Española de Ciencias Hortícolas
Sociedad Española de Genética

Jesús García Brunton // Olaya Pérez Tornero //
José E. Cos Terrer // Leonor Ruiz García // Elena Sánchez López



Región de Murcia
Consejería de Agua, Agricultura,
Ganadería y Pesca

INFLUENCIA DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA MEJORA GENÉTICA DE PLANTAS

Jesús García Brunton
Olaya Pérez Tornero
José E. Cos Terrer
Leonor Ruiz García
Elena Sánchez López

Sociedad Española de Ciencias Hortícolas
Sociedad Española de Genética



Instituto Murciano de Investigación
y Desarrollo Agrario y Alimentario



"Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural: Europa invierte en las zonas rurales"

Esta publicación ha sido financiada a través de la medida 1 del Programa de Desarrollo Rural 2014-2020 de la Región de Murcia, gestionada por el Servicio de Formación y Transferencia Tecnológica.

Murcia, 2018

1ª Edición, 2018

© Los autores

© Comunidad Autónoma de la Región de Murcia
Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería y Pesca
Dirección General de Agricultura, Ganadería, Pesca y Acuicultura
Servicio de Formación y Transferencia Tecnológica

ISBN: 978-84-948233-8-1

D.L.: MU 855-2018

Edición a cargo de Compobell, S.L. (Murcia)

Agradecimientos

El comité organizador quiere agradecer a los coordinadores y autores de cada uno de los capítulos por el gran trabajo que han desarrollado, y a la Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería y Pesca por la financiación.



Estimado lector.

Tiene en sus manos el resultado del trabajo conjunto de un gran número de expertos de diferentes ámbitos de la mejora genética de plantas. Todos ellos han aportado sus experiencias, conocimientos y opiniones sobre los diferentes aspectos que relacionan la mejora genética de plantas y el reto al que nuestra sociedad se enfrenta: el cambio climático.

Actualmente el sector agrario español es un referente mundial en la producción de muchas de las especies agrícolas y forestales cultivadas. Parte de esta pujanza se fundamenta en los esfuerzos realizados por investigadores de instituciones públicas y privadas españolas en los diversos campos implicados en la mejora vegetal.

Esperamos que disfrute de su lectura y que los conocimientos que de ella se deriven, sirvan para conservar e incrementar la investigación en la mejora genética de plantas.

El Comité Organizador del
IX Congreso de Mejora Genética de Plantas.

Murcia, septiembre de 2018.



Prólogo

Este es el décimo libro sobre temas relacionados con la mejora genética de plantas editados conjuntamente por la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (SECH) y la Sociedad Española de Genética (SEG), aunque hay numerosos antecedentes de los mismos. El Grupo de Trabajo de Mejora Genética de la SECH tuvo durante muchos años como principal actividad la realización, en años alternos, de unas Jornadas de Selección y Mejora de Plantas Hortícolas y la publicación de las Actas correspondientes. Asimismo, la Sección de Mejora de Plantas de la SEG organizó en Lugo en el año 2000 el Primer Seminario de Mejora Genética Vegetal. Las dos Sociedades se pusieron de acuerdo para publicar un primer libro, “Los marcadores moleculares en la mejora vegetal”, cuyo éxito condujo a la decisión de organizar conjuntamente, cada dos años, unos “Congresos de Mejora Genética de Plantas”, el primero de los cuales se celebró en Almería en el año 2002.

La mayor originalidad de los Congresos de Mejora Genética de Plantas es que, junto a las Actas del Congreso, se entrega a los participantes un libro como el que estamos presentando, cuyo contenido trata de reunir todos los conocimientos que los mejoradores de plantas tienen en ese momento sobre el tema elegido. En el Apéndice puede verse la relación de los 9 libros publicados antes de éste. No puedo dejar de señalar que el primer promotor de estas publicaciones fue mi estimado compañero y amigo el Dr. Fernando Nuez Viñals, Catedrático de Genética y Mejora Vegetal de la Universidad Politécnica de Valencia, miembro destacado de las dos Sociedades, ahora jubilado.

El tema elegido este año, la influencia del cambio climático en la mejora genética de plantas, se podría decir que plantea un reto superior al de todos los libros anteriores. Es indudable que el cambio climático va a tener, está teniendo ya, un gran impacto en la actividad agrícola y en la productividad de los ecosistemas agrarios. En el primer capítulo del libro, que es un resumen del contenido total del mismo, se revisan en primer lugar los efectos del cambio climático sobre la agricultura en general, aunque señalando que los impactos sobre la productividad agrícola van a variar ampliamente entre las distintas regiones del planeta. Se presentan a continuación los



caracteres que deberán ser objetivos de mejora para la adaptación al cambio climático, entre los que destacan la resistencia a factores abióticos, con la dificultad que ello representa al estar estos factores casi siempre controlados por un gran número de genes con efecto cuantitativo. Para la adaptación al cambio climático será necesario por tanto recurrir a las especies silvestres emparentadas o a variedades locales para aumentar la base genética disponible. Teniendo en cuenta lo anterior, una de las peores consecuencias del cambio climático puede ser la erosión genética tanto de variedades locales como de especies silvestres todavía no conservadas *ex situ*.

En el capítulo se revisan después los métodos de mejora para adaptación al cambio climático. Una nueva propuesta para la incorporación de la diversidad presente en las especies silvestres relacionadas es la denominada “mejora preventiva”, también llamada “introgresiónica”. Se examinan asimismo los proyectos de mejora participativa y evolutiva, basados en la cultura agrícola tradicional de los países en vías de desarrollo, proyectos que tendrán que ser potenciados por los nuevos avances de la genómica, la secuenciación, los marcadores moleculares, los mapas genéticos y la anotación de genes. Se analizan por último las posibilidades de la transformación genética, de la cisgénesis y de la edición genética basada en el sistema CRISPR/Cas9.

Después de un segundo capítulo íntegramente dedicado a revisar los retos que deben afrontar los bancos de germoplasma como recurso para hacer frente al cambio climático, los demás capítulos del libro son específicos de la problemática que representa dicho cambio en cada uno de los principales cultivos.

Como conclusión podemos acabar afirmando que el cambio climático supone un desafío sin precedentes para los mejoradores de plantas, que exigirá la integración de multitud de esfuerzos y conocimientos antiguos y modernos. Diversos modelos indican que la Península Ibérica va a ser una de las regiones europeas en las que va a decrecer más la productividad agrícola debido al cambio climático. Dentro de España, las comarcas del sureste van a estar muy probablemente entre las que más sufran. No es casualidad que sea Murcia la sede del Congreso en donde este libro será presentado. Ya en enero de 2016 el Grupo de Fruticultura de la SECH organizó en esa ciudad unas Jornadas sobre “Las necesidades en frío y calor, clave para la adaptación de los frutales al cambio climático”, lo que revela la preocupación que ya existía entonces sobre este tema. El Presidente del Comité Organizador de aquellas Jornadas, el Dr. Jesús García Brunton, es también quién preside el Comité Organizador del IX Congreso de Mejora Genética de Plantas.



Sólo me resta agradecer a la Dra. María José Díez su valiosa colaboración para la redacción de este prólogo.

Gerardo Llácer, Dr. Ingeniero Agrónomo
Profesor de Investigación del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias
(IVIA), jubilado. Moncada (Valencia)

APÉNDICE

Nuez F, Carrillo JM (Eds.). 2000. Los marcadores moleculares en la mejora vegetal. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas y Sociedad Española de Genética. Universidad Politécnica de Valencia. ISBN: 84-7721-945-1.

Nuez F, Carrillo JM, Lozano R. (Eds.). 2002. Genómica y Mejora Vegetal. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas y Sociedad Española de Genética. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca. MUNDI-PRENSA S.A. ISBN: 978-84-8476-066-5.

Nuez F, Pérez de la Vega M, Carrillo JM. (Eds.). 2004. Resistencia genética a patógenos vegetales. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas y Sociedad Española de Genética. Universidad Politécnica de Valencia. Universidad de León. ISBN: 84-9705-599-3.

Llácer G, Díez M.J., Carrillo J.M., Badenes M.L. (Eds.). 2006. "Mejora genética de la calidad en plantas". Sociedad Española de Ciencias Hortícolas y Sociedad Española de Genética. Universidad Politécnica de Valencia. ISBN: 84-9705-693-0.

Ávila CM, Atienza SG, Moreno MT, Cubero JI. (Eds.). 2008. La adaptación al ambiente y los estreses abióticos en mejora vegetal. Junta de Andalucía. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura y Pesca. ISBN: 978-84-8474-248-2.

Carrillo JM, Díez MJ, Pérez de la Vega M, Nuez F. (Eds.). 2010. Mejora Genética y Recursos Fitogenéticos: Nuevos avances en la conservación y utilización de los Recursos Fitogenéticos. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas y Sociedad Española de Genética. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. ISBN: 978-84-491-1014-6.

Ferreira JJ, Ordás A, Pérez de la Vega M. (Eds.). 2012. La genética de los caracteres cuantitativos en la mejora vegetal del siglo XXI. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas y Sociedad Española de Genética. Servicio Regional de Investigación y



Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) del Principado de Asturias. ISBN: 978-84-695-4079-4.

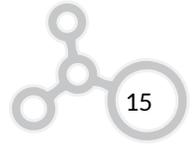
Socias R, Rubio MJ, Garcés A, Mallor C, Alvarez JM. (Eds.). 2014. La obtención de variedades: de la mejora clásica hasta la mejora genética molecular. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas y Sociedad Española de Genética. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). ISBN: 978-84-8380-320-2.

Ruíz de Galarreta JI, Prohens J, Tierno R. (Eds.). 2016. Las variedades locales en la mejora genética de plantas. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas y Sociedad Española de Genética. Gobierno Vasco. Departamento de Desarrollo Económico y Competitividad. ISBN: 978-84-457-3395-0.

Índice

Capítulo I

Mejora genética frente al cambio climático



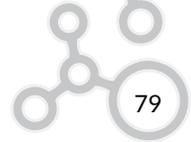
Capítulo II

Retos que deben afrontar los bancos de germoplasma como recurso para hacer frente al cambio climático



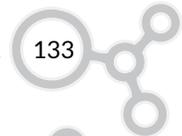
Capítulo III

Frutales de hueso y pepita



Capítulo IV

Influencia del cambio climático en la mejora de cereales



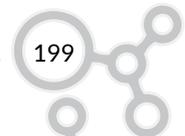
Capítulo V

La viticultura frente al cambio climático: adaptación y estrategias de mejora



Capítulo VI

Los cítricos frente al cambio climático. Estrategias biotecnológicas para la mejora del cultivo



Capítulo VII

La mejora de olivo para adaptación al cambio climático



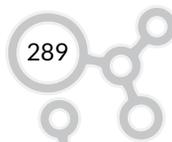
Capítulo VIII

Solanáceas ante el cambio climático: retos y mejora genética.....



Capítulo IX

Cucurbitáceas



Capítulo X

Las leguminosas ante el cambio climático.....



Capítulo XI

Retos de la mejora de los cultivos de brásicas ante condiciones del cambio climático.....



Capítulo XII

Granado, higuera y caqui





Capítulo I.

MEJORA GENÉTICA FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO

José I. Ruiz de Galarreta¹, Pietro Gramazio² y Jaime Prohens^{2*}

1 Neiker-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario.

2 Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Universitat Politècnica de València.

*Coordinador: jprohens@btc.upv.es

CONTENIDO:

1. Cambio climático: evidencias y efectos sobre la agricultura
2. Caracteres objetivo para adaptación al cambio climático
3. Erosión genética como consecuencia del cambio climático
4. Fuentes de variación para adaptación al cambio climático
5. Métodos de mejora para adaptación al cambio climático
6. Mejora preventiva frente a cambio climático: introgresiónica
7. Mejora participativa y evolutiva frente al cambio climático
8. Aplicaciones de la genómica y nuevas técnicas de mejora para adaptación al cambio climático
9. Conclusiones
10. Agradecimientos
11. Bibliografía



Capítulo I.

MEJORA GENÉTICA FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO

1. Cambio climático: evidencias y efectos sobre la agricultura

El clima de nuestro planeta ha sufrido cambios importantes desde su formación, con épocas más cálidas y más frías a las actuales y con variaciones considerables en las precipitaciones y concentraciones de gases en la atmósfera (Zalasiewicz y Williams, 2016). Dichos cambios no han tenido lugar solo a escala geológica, si no que a lo largo de los últimos miles de años han tenido lugar cambios importantes en el clima del planeta debidos, entre otros, a cambios en los ciclos solares, en la composición atmosférica, o en las corrientes marinas, a variaciones en la órbita terrestre, o a erupciones volcánicas (Wanner et al., 2008). A este respecto, se ha sugerido que la aparición de la agricultura fue en gran medida favorecida por el cambio climático que marca el cambio del Pleistoceno al Holoceno (Richerson et al., 2001), al menos en determinadas regiones como el Oriente Próximo (Wright y Thorpe, 2003). También durante la época histórica han tenido lugar cambios climáticos, con épocas más cálidas tales como las que tuvieron lugar entre los siglos IX y XII, que permitieron el establecimiento de colonias vikingas en Groenlandia o más frías como la Pequeña Edad de Hielo entre el siglo XIV y mitad del XIX (Broecker, 2001; Wanner et al., 2008).

En los últimos 150 años la emisión masiva de CO_2 , un gas de efecto invernadero, a la atmósfera resultante de la utilización de combustibles fósiles como el carbón, petróleo y gas natural ha traído como consecuencia un aumento de las concentraciones de CO_2 de unas 280 ppm a más de 400 ppm en la actualidad (Betts et al., 2016). Además del CO_2 , la actividad industrial, agrícola y ganadera libera también cantidades crecientes de otros gases de efecto invernadero como el metano o el óxido nitroso. El incremento de las concentraciones de estos gases en la atmósfera está inequívocamente ligado a un incremento de la temperatura global (IPCC, 2014). Así, la temperatura media global ha aumentado cerca de 1 °C desde 1880. Dado que las emisiones de gases de efecto invernadero no solo no se reducen, sino que están creciendo, esperándose que esa tendencia siga al menos en próximos años, las proyec-



ciones son que para 2100 la temperatura va a aumentar, dependiendo de los distintos escenarios, entre 1 °C y 3.7 °C adicionales (IPCC, 2014).

El cambio climático va a tener un gran impacto en la actividad agrícola y en la productividad de los ecosistemas agrarios (Rosenzweig et al., 2014). Aunque los incrementos de concentraciones de CO₂ van a contribuir a una mejora en la productividad agrícola debido a la mejora en la eficiencia de la fotosíntesis, a nivel global los efectos del cambio climático como el incremento de la temperatura media, del estrés por altas temperaturas, la variación en los patrones de pluviometría, el aumento de los eventos extremos y el incremento de las concentraciones de ozono van a causar una reducción en la productividad agrícola (Anwar et al., 2013). Por otra parte, el incremento del nivel del mar como consecuencia del aumento de la temperatura global provocará la pérdida de tierras cultivables y la intrusión marina en acuíferos (Nicholls y Tol, 2006). También el desarrollo y aparición de determinadas plagas y enfermedades de los cultivos va a intensificarse con el aumento de las temperaturas (Bebber et al., 2013). Así, diferentes modelos indican que por cada grado centígrado de incremento de temperatura a nivel global la reducción de la productividad agrícola puede rondar entre un 6 y un 10% (Guarino y Lobell, 2011). No obstante, los impactos en la productividad agrícola van a variar ampliamente dependiendo de las regiones del planeta y las previsibles reducciones en la productividad en regiones tropicales pueden verse compensadas por mayores productividades en latitudes altas, donde las bajas temperaturas son un factor limitante en la producción agrícola (Rosenzweig et al., 2014). Por lo que respecta a la Península Ibérica, diversos modelos indican que va a ser una de las regiones europeas en las que la productividad agrícola va a decrecer más debido al cambio climático, con descensos de alrededor del 30% de la productividad en la mayor parte del territorio (Císcar, 2009).

2. Caracteres objetivo para adaptación al cambio climático

En un programa de mejora genética la elección de los objetivos es fundamental para poder desarrollar variedades superiores a las ya existentes y que estén bien adaptadas al área agroecológica donde se vayan a cultivar. En general, éstos se pueden agrupar en cuatro grandes bloques: rendimiento, adaptación, resistencia a estreses y calidad.

El aumento paulatino del CO₂ en la atmósfera puede desencadenar un efecto directo en la fisiología de los vegetales, como incrementar la actividad fotosintética en plantas C3 (trigo, cebada) o un aumento en la eficiencia del uso del agua, tanto en éstas,



como en plantas C4. Pero también produce efectos indirectos como la elevación de la temperatura (2-3°C) y el cambio de regímenes de precipitación, dando lugar a sequías o inundaciones (Ceccarelli et al, 2010). Todo ello afectará a las plantas, ya que se verán sometidas a un determinado estrés abiótico, siendo éste el mayor factor limitante de la productividad.

Un programa de mejora genética para adaptación implica una búsqueda de la resistencia a factores abióticos, lo cual obliga a buscar una mayor concreción en los objetivos y caracteres a seleccionar, teniendo en cuenta que éstos suelen estar controlados por un alto número de genes con efecto cuantitativo. Los principales estreses asociados al cambio climático son los siguientes:

a. Tolerancia a la sequía: el objetivo es buscar el mantenimiento de las funciones de la planta sometida a alteraciones del estado hídrico. En general, dicho déficit afecta a cada aspecto del crecimiento de la planta, involucrando la anatomía, morfología, fisiología y bioquímica (Dobra et al., 2010). Entre los efectos más obvios son los fallos en la germinación, la reducción de la altura, área foliar y rendimiento. La tolerancia al estrés hídrico involucra el desarrollo de bajos potenciales osmóticos y acumulación de solutos, que es una característica presente en muchas especies de plantas en ambientes áridos. Se están empleando diferentes estrategias de mejora como conseguir una re-hidratación y restauración de las funciones de la planta tras un periodo de estrés. Otras, están relacionadas con aumentar la eficiencia del uso del agua, entendida como la relación entre el rendimiento y la tasa de transpiración.

La respuesta molecular de las plantas al estrés es la modificación de la expresión génica. Durante el déficit hídrico, diferentes tipos celulares responden incrementando o disminuyendo la transcripción de determinados genes. Se han incorporado herramientas moleculares como el mapeo de asociación para identificar genes candidatos relacionados con el estrés (Schönhals et., 2017), obteniéndose también plantas transgénicas tolerantes a la sequía (Pandey et al., 2011). Asimismo, se ha demostrado que proteínas de origen bacteriano pueden ser útiles para conferir tolerancia al estrés hídrico como las chaperoninas de RNA, que han servido para desarrollar el híbrido de maíz DroughtGard de Monsanto.

b. Resistencia a altas temperaturas: existen una serie de caracteres que están asociados al uso eficiente de la radiación solar como la cobertura temprana del suelo, el mantenimiento del verdor en las hojas o una elevada tasa fotosintética, lo que contribuye de forma positiva a la tolerancia a las altas temperaturas (Saint-Pierre et al., 2008). La baja temperatura del dosel y la alta conductancia estomática son también

indicadores de tolerancia. Otra estrategia empleada es la selección de genotipos precoces como método de escape al estrés terminal.

c. Tolerancia a la salinidad: un incremento en la concentración salina dificulta la captación de agua desde un medio más hipertónico e inhibe la entrada de nutrientes esenciales, diluidos en una combinación de sales heterogéneas que incluyen otros minerales tóxicos. La respuesta adaptativa de la planta se relaciona con la homeostasis iónica, fundamentalmente del sodio, que es nocivo a altas concentraciones, así como del potasio, un nutriente esencial cuya captación se ve afectada por los iones sodio. La mejora genética mediante la explotación de la variabilidad natural asistida por marcadores moleculares de alta densidad, ha permitido la selección de trigos más tolerantes a la salinidad (Munns et al., 2012). El mecanismo subyacente es una mayor retirada del sodio en el flujo xilemático mediada por proteínas de tipo HKT que actúan como canales de sodio. Se han identificado procesos similares en arroz y tomate, y anticipan un margen razonable de mejora, aunque la variabilidad natural disponible en especies cultivadas es claramente insuficiente para satisfacer la demanda tecnológica. Por otro lado, a pesar de la identificación de genes implicados en la respuesta a la salinidad, el éxito en la traslación de los resultados de laboratorio al campo ha sido muy limitado, por ser un carácter poligénico. La activación ectópica de rutas enteras o de procesos metabólicos relacionados con el estrés celular mediante la expresión de proteínas reguladoras, como TFs, han producido fenotipos más tolerantes pero con reducción en el crecimiento. Aquellos casos, en los que se han obtenido fenotipos interesantes, se han visto obstaculizados por el exceso regulatorio que dificulta la comercialización de un cultivo transgénico. No obstante, el desarrollo que están suponiendo las nuevas técnicas de edición génica (nucleasas TALEN y el sistema CRISP/Cas) anticipan una oleada de nuevos productos biotecnológicos con distintas modificaciones poligénicas diseñadas *ad hoc*. Entre los avances recientes se puede destacar la demostración práctica de la edición génica dirigida directamente por un complejo ribonucleico de RNA guía y nucleasa Cas9, sin la transferencia de DNA recombinante a la planta (Woo et al., 2015).

d. Tolerancia a nuevos patógenos: a temperaturas elevadas y alta concentración de CO₂ pueden evolucionar nuevas razas de patógenos debido a un aumento de los ciclos de fecundidad y de la infección en virtud de un microclima más favorable (Chakraborty, 2013). Asimismo, la distribución geográfica de los patógenos puede también modificarse (Bebber et al., 2013). No obstante, todavía hay un pequeño número de casos comprobados de cambio en la incidencia de enfermedades debido al cambio climático.



La ausencia de series históricas de los problemas fitosanitarios es otra de las razones para la baja incidencia de casos confirmados. Una de las evidencias es *Dothistroma septosporum*, que provoca la quema de *Pinus contorta* var. *latifolia*, en los bosques de la Columbia Británica en Canadá (Woods et al., 2010). Utilizando datos de 69 años de incidencia de *Phytophthora infestan* en patata en Finlandia, Hannukkala et al. (2007) concluyeron que la severidad de esta enfermedad se asocia con el cambio climático y la falta de rotación de cultivos. En cuanto a plagas, son las invasoras las más favorecidas en condiciones de sequía tales como los chinches y trips, ya que el aumento en la temperatura favorece su tasa reproductiva (Hamada, 2011).

e. **Resiliencia:** entendida como un indicador de la capacidad de los cultivos de absorber perturbaciones, sin alterar significativamente sus características productivas (Darnhofer, 2014). El uso de la diversidad es fundamental para optimizar el rendimiento y la resiliencia de los mismos. Ésta, en los sistemas agropecuarios se compone de tres aspectos: capacidad de amortiguamiento (buffer), capacidad de adaptación, y capacidad transformacional (Cuevas-Reyes, 2010). Muchas investigaciones plantean que el conocimiento tradicional y las prácticas indígenas de manejo de los recursos son la base de la resiliencia de los agroecosistemas campesinos. Estrategias como mantener la diversidad genética, utilizar policultivos y la conservación de suelos minimizan los riesgos frente a climas inciertos. El uso diversificado del paisaje y el acceso a recursos múltiples, incrementa la capacidad de los campesinos de responder a la variabilidad y al cambio ambiental (Altieri y Nicholls, 2013). Asimismo, el empleo de los sistemas tradicionales de manejo, en combinación con el uso de estrategias basadas en la agroecología, puede representar una vía para incrementar la sostenibilidad y resiliencia de los cultivos. En el caso del tomate un programa gestionado de plagas con depredadores polífagos ha reducido el uso de plaguicidas y aumentado la resiliencia de este cultivo debido al incremento de la capacidad de inducir respuestas de defensa de la planta por su comportamiento fitófago (Perez-Hedo y Urbaneja, 2015).

La mitigación, entendida como las políticas, tecnologías y medidas tendentes a limitar y reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y mejorar los sumideros de los mismos, es un aspecto que hay que considerar. Con el Protocolo de Kyoto en 1998 se validó el potencial de los bosques y de las plantas para secuestrar carbono mediante la fotosíntesis. Estos procesos naturales están dentro de un conjunto de medidas sectoriales y ambientalmente efectivas propuestas por el IPCC, en el año 2007 (Solomon, 2007). Los cultivos y comunidades vegetales pueden actuar como reservas de carbono, ya que a través de la asimilación de CO₂ ayudan a compensar



las emisiones. Por otro lado, si se lograra reducir la deforestación y aumentar la protección de hábitats naturales, se estimularía este efecto sumidero (Parry et al., 2007). Los estudios de especies involucradas en la recuperación de áreas degradadas donde actúan como biorremediadoras y la biotransformación de residuos vegetales en energía y productos de interés comercial son ejemplos de investigaciones desarrolladas en el contexto de la mitigación de estos desordenes climáticos.

3. Erosión genética como consecuencia del cambio climático

La erosión genética es la pérdida de diversidad genética de una especie (Carrillo, 2016). En la mejora de plantas, la erosión genética de las variedades tradicionales y de las especies silvestres relacionadas produce una pérdida irreversible de diversidad genética, la cual deja de ser aprovechable para el mejorador. La erosión genética de las variedades tradicionales, al ser reemplazadas por variedades mejoradas, es un fenómeno bien conocido que ha provocado la desaparición de muchas variedades tradicionales (van de Wouw et al., 2010). Afortunadamente, en la mayoría de los cultivos importantes, las labores de recolección y conservación de variedades tradicionales realizadas por investigadores y bancos de germoplasma ha permitido conservar una parte importante de la diversidad antes de que esta desapareciese de los campos de cultivo. También en especies silvestres emparentadas con los cultivos se ha hecho un esfuerzo de recolección y conservación de las mismas. Así, a nivel global, los bancos de germoplasma conservan más de 7 millones de accesiones de especies cultivadas y silvestres relacionadas (FAO, 2010). Sin embargo, en muchos cultivos menores y marginados y en las especies silvestres relacionadas con los cultivos, la proporción de diversidad genética potencialmente útil para los mejoradores conservada en los bancos de germoplasma es mucho menor (FAO, 2010).

Una de las consecuencias del cambio climático puede ser la erosión genética, tanto de variedades locales como de especies silvestres no conservadas todavía *ex situ* (Burke et al., 2009; Dempewolf et al., 2014). En el caso de las variedades locales, éstas son el resultado de la evolución y selección natural y artificial de éstas para adaptación a condiciones locales (Cubero, 2016). El rápido cambio climático va a provocar variaciones ambientales importantes en los agroecosistemas, de forma que muchas variedades tradicionales actualmente cultivadas, a pesar de ser biodiversas, no van a ser capaces de adaptarse a las nuevas condiciones, lo que puede abocarlas a su desaparición (Bellon y van Etten, 2014). En algunos casos, la diversi-



dad puede mantenerse por migración a nuevas áreas donde se den las condiciones ambientales adecuadas, pero muchas variedades pueden quedar excluidas del proceso o perder una parte importante de la diversidad durante la migración. En el caso de las especies silvestres, a lo largo de su evolución, han sufrido episodios de cambio climático adaptándose a los mismos mediante variación en las frecuencias alélicas y/o migración (Pauls et al., 2013). Sin embargo, la reducción y fragmentación de los hábitats de muchas especies, junto con las discontinuidades importantes de los ambientes causadas por la actividad humana (agricultura, ciudades, etc.) puede dificultar o impedir dicha migración causando la extinción de poblaciones genéticamente diferenciadas o incluso de especies completas (Jarvis et al., 2008). También, y de forma muy significativa, el cambio climático dificulta las iniciativas de conservación de los recursos *in situ*, muy comúnmente utilizadas en especies forrajeras y forestales, ya que se puede producir una pérdida de adaptación a las condiciones de las zonas en que se están conservando actualmente. En estos casos se ha propuesto la delimitación de zonas refugio, especialmente en especies silvestres relacionadas con los cultivos vulnerables (Araújo et al., 2004).

Con el fin de evitar la pérdida de la diversidad de especies silvestres emparentadas con los cultivos se puede utilizar técnicas de análisis de deficiencias ('gap analysis') en las colecciones de germoplasma (Maxted et al., 2008). En una de las aplicaciones de esta estrategia, a partir de los datos georeferenciados de accesiones de especies silvestres relacionadas presentes en los bancos de germoplasma y de especímenes de herbario de estos materiales, se puede realizar una comparación de las zonas de distribución conocidas de la especie con las presentes en las colecciones de germoplasma, siendo posible identificar zonas prioritarias de recolección de especies silvestres emparentadas con los cultivos (Ramírez-Villegas et al., 2010; Syfert et al., 2016). También mediante la combinación de los registros de herbarios, bancos de germoplasma u otras fuentes de la presencia de especies silvestres es posible, en combinación con bases de datos climáticas definir los nichos ambientales de especies silvestres concretas e identificar zonas donde potencialmente se pueden encontrar poblaciones de una especie silvestre concreta (Ramírez-Villegas et al., 2010; Parra-Quijano et al., 2011).

En definitiva, el cambio climático puede tener implicaciones importantes en la erosión genética de los cultivos y de las especies silvestres relacionadas con los mismos y es necesario el desarrollo de estrategias para evitar la erosión genética de los mismos. Además de las estrategias para la conservación *in situ*, como el establecimiento de reservas y zonas refugio, y la recolección de materiales prioritarios y en riesgo de extinción para la conservación *ex situ* (Araújo et al., 2004; Jarvis et al., 2008; Maxted et



al., 2008), una de las iniciativas globales para asegurar la conservación de los recursos fitogenéticos, es la “Bóveda Global de Semillas de Svalbard” (Ford-Lloyd et al., 2014). Estas instalaciones se encuentran en la isla de Spitsbergen (Noruega), situada en el Círculo Polar Ártico, y consiste en una excavación realizada en el permafrost bajo una montaña donde se encuentran salas en las que se almacenan semillas de alrededor de 1,5 millones de duplicados de accesiones de bancos de germoplasma a temperaturas de -18°C , que aseguran una larga longevidad de las mismas (Fowler, 2016). Aún en el caso de que los sistemas de refrigeración artificial no actuasen, las bajas temperaturas dentro de la bóveda asegurarían una larga longevidad de los materiales depositados allí. Por otra parte, las instalaciones de la “Bóveda Global de Semillas de Svalbard” están a 130 m de altura sobre el nivel del mar, lo que garantiza que no se inunde aún en los peores escenarios de deshielo como consecuencia del cambio climático (Ford-Lloyd et al., 2014; Fowler, 2016).

4. Fuentes de variación para adaptación al cambio climático

La domesticación de las plantas sobre las que depende actualmente la base alimentaria se realizó desde la prehistoria y con procesos, en general, muy largos. Las primeras formas domesticadas se cultivaban junto con formas silvestres, lo que aseguraría un flujo genético suficiente para mantener polimorfismos. Harlan (1975) ya definió el síndrome de domesticación, como una selección automática para las alternativas génicas más favorables.

La selección posterior realizada por los agricultores dirigida a una mayor productividad, tuvo como consecuencia una reducción de la variabilidad intrínseca en cada especie (Carrillo et al., 2010). Ya durante los últimos siglos, los métodos de mejora dirigidos a obtener un elevado rendimiento han puesto en peligro la base genética de los cultivos, aumentando de esa forma la vulnerabilidad de los mismos frente a nuevas razas de patógenos o situaciones ambientales específicas.

Teniendo en cuenta los caracteres a seleccionar para la adaptación al cambio climático, es necesario recurrir a las especies silvestres emparentadas o variedades locales para aumentar la base genética y detectar así genes favorables que permitan cierta tolerancia de la planta frente a condiciones adversas.

En trigo se han empleado fuentes de variación en *Aegilops spp* mediante cruzamientos interespecíficos, para buscar tolerancia a altas temperaturas y sequía (Reynolds et al., 2007). También se ha utilizado la transformación genética con genes provenientes



de *Arabidopsis* (gen DREB2) (Qin, et al., 2007) o genes relacionados con la síntesis del almidón soluble, provenientes de plantas de arroz. En tomate se han utilizado especies silvestres para resistencia a sequía como *Solanum pennellii*, *S. chilense*, *S. pimpinellifolium* y *S. cheesmanii* (Foolad et al., 2007). Sin embargo, los progresos logrados en este campo han sido escasos, debido a la complejidad de los caracteres vinculados a este estrés y a los mecanismos fisiológicos, la presencia de numerosos genes, la gran influencia ambiental y la respuesta diferencial durante cada fase de desarrollo de la planta. En patata, Bedogni et al. (2009) identificaron genotipos tolerantes a estrés hídrico en variedades nativas como Sipancachi o Natin Suito. Asimismo, en judía-grano las diferentes variedades locales de origen mesoamericano como Common Red Mexican, Flor de Mayo o Apetito han supuesto una fuente muy importante de genes de resistencia a la sequía (Singh, 2007).

Para la tolerancia a la salinidad se ha demostrado la existencia de una amplia variabilidad intraespecífica en especies como *Sorghum bicolor* L. (Igartua y Gracia, 1999) o algodón (Ashraf, 2002) y variabilidad interespecífica en especies cercanas a las cultivadas como tomate o trigo duro (Munns, 2005). La salinidad afecta a todos los procesos fisiológicos de la planta, siendo uno de los más estudiados el ajuste osmótico, el cual está también relacionado con el estrés hídrico. Para este carácter se ha identificado variabilidad en cultivos como trigo, cebada, arroz, sorgo y maíz. Cuartero et al. (2002) también demostraron la existencia de variación en tomate.

Otras fuentes de variación utilizadas en cruzamientos para introgresión de genes procedentes de variedades locales para resistencia a enfermedades fúngicas e insensibilidad al fotoperiodo lo podemos encontrar en maíz con el cultivar local 'Zapalote Chico' de Méjico. En trigo, la variedad japonesa Oria 10 introducida en América en 1946, tuvo un papel primordial en la denominada Revolución Verde, ya que fue utilizada como donante de los genes responsables del enanismo. En ray-grass italiano, un conjunto de variedades locales fueron las fuentes de resistencia para la roya, lo que tuvo como consecuencia el establecimiento de céspedes en lugares de clima templado y subtropical. En alfalfa un ecotipo local iraní se utilizó como donante de la resistencia al nematodo del talo. En brásicas, también se han empleado variedades locales como fuentes de resistencia a la enfermedad denominada pierna negra (Lema et al., 2010).

En patata, se ha incorporado germoplasma exótico proveniente de especies silvestres y variedades nativas en varios programas de mejora genética para resistencia a estreses abióticos. Así, las variedades nativas Imilla lunku, Pintaboca y Waychu qoyllu, se han empleado en Bolivia para conferir resistencia a la sequía. También se han utili-



zado especies silvestres como *S. etuberosum*, *S. hougasii* o *S. polytrichum*, tolerantes a sequía o *S. vernei*, con resistencia a las heladas.

Una estrategia paralela es el desarrollo de nuevos cultivos a futuro para el mantenimiento y aumento de la producción agrícola sometida al cambio climático. La domesticación comenzó hace solo 5,000 a 12,000 años para los cultivos más antiguos como el maíz, el trigo, la patata y el sorgo, mientras que, los arándanos y el arroz silvestre por ejemplo, fueron domesticados más recientemente. Hoy en día, hay centros de investigación que han iniciado programas de cruzamientos entre formas perennes de especies como maíz, mijo, arroz, sorgo, girasol y trigo con sus homólogos anuales y domesticados para el desarrollo de cultivos de granos perennes. Por otra parte, el creciente interés en la bioenergía, también ha alentado la domesticación de gramíneas C4, como pasto varilla (*Panicum virgatum*) y *Miscanthus*.

Asimismo, se están dando incitativas sobre la introducción de nuevos cultivos como alternativa a algunos existentes y que puedan adaptarse a las nuevas situaciones ambientales. En España, y concretamente en la Región de Murcia, se están probando frutas subtropicales en un claro intento de hacer frente al cambio climático al ser cultivos más resistentes al estrés hídrico, como el mango, la papaya, el aguacate, la chirimoya y la pitahaya.

5. Métodos de mejora para adaptación al cambio climático

Para definir los métodos a utilizar en programas de mejora frente al cambio climático, hay que tener en cuenta que existen caracteres implicados muy complejos, relacionados con la tolerancia a estreses abióticos, y otros más simples, como a resistencias frente a plagas y enfermedades. No obstante, el término adaptación incluye parámetros como vigor temprano, maduración adecuada, respuesta a niveles de fertilización, resistencia a altas temperaturas y a sequía o tolerancia al frío.

Si nos centramos en la resistencia a sequía, hay que identificar los mecanismos implicados, como el escape o la tolerancia. El escape a la sequía tiende a minimizar la interacción de ésta con el crecimiento del cultivo y su rendimiento, mientras que la tolerancia proporciona una capacidad productiva a pesar de la pérdida de humedad de la planta. Los métodos de mejora tienen que estar adecuados a la selección de este tipo de caracteres, de base genética muy compleja e influenciados por el medio, es decir, con una gran interacción genotipo por ambiente (gxe). Este factor es importante no sólo en los caracteres poligénicos, sino también en monogénicos y ambos tipos están involucrados en las consecuencias del cambio climático.



En la tolerancia a la salinidad, si el objetivo de mejora es la obtención de genotipos altamente resistentes, cercana a la del agua marina, una estrategia puede ser la domesticación de especies halófitas mediante cruzamientos con especies silvestres, aunque es un proceso muy largo. Si se persigue una tolerancia moderada, se partiría de donantes sin resistencia extrema, pero genéticamente más próximos (Cuartero et al., 2002).

Básicamente, los métodos de mejora se dividen atendiendo al tipo de reproducción de la planta, según sean especies autóгамas (reproducción por autofecundación), especies alógamas (reproducción por polinización cruzada) o especies de multiplicación vegetativa.

En especies autóгамas, como el trigo que son homocigóticas, el método más sencillo es la selección masal, mediante eliminación de los genotipos no deseados o por selección de los que cumplen los objetivos de mejora. Tiene la ventaja de ser rápido y simple, pero con la desventaja de tener que seleccionar para caracteres con alta heredabilidad. Otro método es la selección de líneas puras, eligiendo los mejores genotipos y evaluando sus descendencias al año siguiente, formando así la nueva variedad con las líneas seleccionadas. Este método se aplica a cultivos que necesitan una gran uniformidad para operaciones de mecanización o de tipo industrial.

Cuando hay que generar variabilidad es necesario la realización de cruzamientos y selección en las generaciones segregantes, bien por el método genealógico o masal. También se ha utilizado la técnica denominada 'bulk selection', la cual se basa en estratificar cruces para la selección de padres basados en el rendimiento.

En especies alógamas como el maíz, el método más empleado es la obtención de híbridos, a partir de líneas puras desarrolladas por autofecundación o la obtención de haploides dobles y su duplicación posterior. La ganancia genética inicial que se obtiene con los híbridos es muy elevada, pero en los siguientes ciclos decrece paulatinamente. Por ello, otro método que se emplea es la selección recurrente cuyo objetivo es acumular alelos favorables en el material de partida y mantener la variabilidad genética. Comprende tres fases: desarrollo de progenies, evaluación y recombinación, existiendo diferentes variantes en el método (Weyhrich et al., 1998).

En la tolerancia a sequía, al tratarse de caracteres poligénicos involucrados, un aspecto muy importante es incidir en los aspectos fisiológicos relacionados con la mejora del rendimiento. Asimismo, es crucial la determinación de las asociaciones genotipo/fenotipo para aumentar la eficiencia de los métodos bien tradicionales o bien moleculares (Tollenaar y Lee, 2006). Otra técnica que se emplea tras los cruzamientos para generar variabilidad es el retrocruzamiento, muy utilizado para la introducción de ca-



racteres monógenicos a una variedad ya establecida y asociados generalmente con resistencia a determinadas enfermedades.

Las plantas de multiplicación vegetativa son en realidad un clon dentro del cual no existe más variación que la no hereditaria, por lo que, la selección intraclonal es totalmente ineficaz. Por ello, un método de mejora es producir una población heterogénea mediante la reproducción por semilla. El método más empleado y apropiado para caracteres de tipo poligénico como los relacionados con el cambio climático es mediante la generación de variabilidad por cruzamientos y selección en la F1 y generaciones sucesivas (Ruiz de Galarreta et al., 2006). No obstante, es preciso realizar una evaluación previa de los genotipos frente a los determinados estreses considerados como objetivos de mejora, para realizar una buena elección de los parentales. La descendencia obtenida se someterá a las presiones de selección del estrés ejercidas en las parcelas de los genitores evaluados e involucrados en los cruzamientos realizados. En la mejora genética con frutales habrá, además, que tener en cuenta la respuesta a la selección del patrón, del injerto y de la interacción de ambos en términos de compatibilidad.

En cualquier caso, en los métodos de mejora genética para caracteres poligénicos relacionados con el cambio climático, el reto es poder logra una correcta identificación de las plantas tolerantes a estreses en forma eficiente y confiable. El problema a la hora de su elección es el gran número de caracteres y parámetros fisiológicos involucrados en la respuesta de la planta, cuando está sometida a un estrés determinado. Asimismo, la eficiencia de un método de selección basado únicamente en el rendimiento se ve limitada por la baja heredabilidad de este carácter y la alta interacción entre los genotipos y el ambiente. La idea es poder combinar en la descendencia de un cruzamiento los caracteres fisiológicos relacionados con una alta productividad y tolerancia a determinados estreses.

Un aspecto a tener en cuenta para la evaluación de la respuesta fenotípica de los materiales a seleccionar a un amplio rango de condiciones agroecológicas es la necesidad de llevar a cabo ensayos en múltiples localidades y/o años, es decir multiambientes (EMA). El objetivo final de los EMA, y sobre todo cuando nuestros objetivos están relacionados con el cambio climático, puede consistir en identificar una serie de variedades que muestren un rendimiento superior en un amplio rango de ambientes relacionados con el estrés que estamos evaluando, es decir, de adaptación amplia (baja interacción gxe), Otro concepto, es la elección de determinados genotipos adaptados a un ambiente muy específico. Este tipo de ensayos son fundamentales



para poder evaluar la respuesta de los nuevos materiales que vamos seleccionado y consumen una parte muy importante de los recursos disponibles en un programa de mejora (Romagosa et al., 2008).

6. Mejora preventiva frente a cambio climático: introgresi6mica

La aplicaci6n de los m6todos de mejora gen6tica ha permitido que los programas de mejora puedan responder con una cierta rapidez a la aparici6n de nuevos retos y necesidades, particularmente cuando se dispone de materiales de 6lite en un fondo gen6tico adaptado (Cubero, 2013). Sin embargo, cuando se debe recurrir a especies silvestres o materiales no adaptados como fuentes de variaci6n y el car6cter o caracteres a introducir son complejos, como muchos de los relacionados con tolerancia a cambio clim6tico, el proceso se puede dilatar a lo largo del tiempo, requiriendo varios a6os, si no d6cadas (Dwivedi et al., 2008). As6, es com6n que cuando no se encuentran fuentes de variaci6n dentro de la especie cultivada, se deba recurrir a especies silvestres relacionadas o formas semidomesticadas (Hajjar y Hodgkin, 2007; Dempewolf et al., 2017). Sin embargo, 6stas presentan caracteres desfavorables (Meyer y Purugganan, 2013) muchas veces dominantes y polig6nicos, que requieren de varias generaciones para su eliminaci6n. Adem6s, en los cruzamientos interespec6ficos es com6n el fen6meno del arrastre de ligamiento ("linkage drag") por el cual puede ser dif6cil eliminar genes desfavorables ligados al gen o regi6n g6nica de inter6s de la especie silvestre, como en el caso del gen *Ty-1* que confiere resistencia al virus de la cuchara (Tomato Yellow Leaf Curl Virus) introgresado de la especie silvestre *Solanum chilense* en tomate (Verlaan et al., 2011). As6, cuando se debe recurrir a especies silvestres como fuentes de variaci6n en programas de mejora, la incorporaci6n efectiva del gen o genes de inter6s en variedades comerciales puede demorarse muchos a6os (Dempewolf et al., 2014, 2017). De esta forma, en ocasiones se dispone de una fuente de variaci6n para un car6cter de inter6s en una especie silvestre, pero su incorporaci6n en variedades comerciales se retrasa debido a las dificultades inherentes de la utilizaci6n de especies silvestres en programas de mejora (Hajjar y Hodgkin, 2007; Dwivedi et al., 2008; Meyer y Purugganan, 2013). Para facilitar la utilizaci6n de especies silvestres en mejora se han realizado multitud de trabajos de pre-mejora, incluyendo el desarrollo de poblaciones avanzadas de retrocruzamiento, y el desarrollo de colecciones de l6neas de introgresi6n, que facilitan la utilizaci6n de genes de inter6s de especies silvestres en la mejora de plantas cultivadas (Valkoun et al., 2001; Zamir, 2001; Gur y Zamir, 2004; Guerrero et al., 2016).



Una nueva propuesta para facilitar la incorporación de la diversidad presente en las especies silvestres relacionadas con los cultivos desde una perspectiva ambiciosa y holística, fundamentalmente dirigida a adaptación de los cultivos frente a cambio climático, es la denominada “introgresiómica” (Prohens et al., 2017). La introgresiómica se ha definido como *“el desarrollo sistemático a escala masiva de materiales y poblaciones portadores de introgresiones de fragmentos genómicos procedentes de especies relacionadas (principalmente silvestres) en un fondo genético de cultivos, de forma que se puedan desarrollar nuevas generaciones de cultivares con propiedades mejoradas”* (Prohens et al., 2017). A este respecto, se propone el desarrollo de múltiples materiales de la especie cultivada con introgresiones de especies silvestres o materiales primitivos, de forma que se generen colecciones de materiales que amplíen considerablemente la base genética del cultivo. Se trata pues de un tipo de mejora preventiva, en un sentido similar al propuesto por McIntosh (1992) para abordar el problema de la superación de resistencias a la roya en trigo. Este autor sugirió el desarrollo de distintas poblaciones preventivas de mejora que intrograsasen genes de resistencia a la roya del trigo, de forma que se dispusiese de materiales de élite con el gen o genes adecuados para la rápida generación de cultivares resistentes una vez aparezcan nuevas razas predominantes que superen los genes de resistencia de los cultivares comúnmente utilizados. De esta forma la aproximación introgresiómica se dirige a la generación masiva de materiales para hacer frente a los retos y necesidades presentes y futuras en mejora, ya sean predecibles, como la adaptación al cambio climático, o no (Prohens et al., 2017). A este respecto, existen dos variantes de la introgresiómica, la denominada “dirigida”, cuyo objetivo son determinados objetivos ya sean específicos o generales (como adaptación al cambio climático), o “no dirigida”, en que el objetivo es la generación de materiales que contengan la mayor diversidad posible procedente de especies silvestres, sin buscar deliberadamente un objetivo concreto.

En definitiva, el objetivo fundamental de la introgresiómica consiste en desarrollar materiales de mejora que, presentando un fondo genético de la especie cultivada, contengan en su conjunto introgresiones de especies silvestres que amplíen sustancialmente el fondo genético de la especie cultivada y puedan ser rápidamente incorporados en los programas de mejora. Esos materiales pueden acortar considerablemente el tiempo necesario para desarrollar nuevos cultivares con características mejoradas, gracias a introgresiones de especies silvestres, especialmente en lo que respecta a caracteres complejos como los derivados de adaptación al cambio climático (Dempewolf et al., 2014).



El desarrollo de la introgresión típicamente sigue varios pasos (Prohens et al., 2017). En un primer paso, es necesario identificar los materiales silvestres a utilizar para el desarrollo de materiales con introgresiones silvestres, lo cual dependerá del tipo de aproximación (“dirigida” o “no dirigida”) y de la disponibilidad de materiales de especies silvestres relacionadas, los cuales a menudo se encuentran infrarepresentados en las colecciones de germoplasma (Castañeda-Álvarez et al., 2016). En el caso de una aproximación “dirigida” los materiales de silvestres relacionadas deberían seleccionarse por presentar una probabilidad elevada de contener el carácter o caracteres de interés, ya sea mediante datos de fenotipado o a partir de información sobre los ambientes en los que crece la especie. En este último caso, la utilización de estrategias como la FIGS (Focused Identification of Germplasm Strategy), que se basa en la asunción de que las especies y accesiones que crecen en un ambiente determinado llevan genes para adaptación a esas condiciones ambientales (Street et al., 2016), puede permitir la selección de materiales que puedan ser útiles en la mejora del carácter o caracteres de interés. Aunque esta estrategia se ha aplicado eficazmente para identificar variedades locales con tolerancia a estreses abióticos que sirvan como fuentes de variación en programas de mejora (Bari et al., 2012; Khazaei et al., 2013), su uso en especies silvestres todavía ha sido poco explotado (Street et al., 2016). También en la elección de las especies silvestres a utilizar en un proceso de introgresión es conveniente tener en cuenta el grupo de germoplasma (gene-pool) al que pertenecen y evaluar los riesgos de obtener materiales de introgresión (Prohens et al., 2017). Así, según el concepto de Harlan y de Wet (1971), las especies del germoplasma primario son fácilmente cruzables, las del secundario pueden ser cruzadas pero el grado de éxito puede ser bajo y la descendencia puede ser parcialmente estéril, mientras que las del germoplasma terciario pueden ser difíciles de cruzar y requerir técnicas especiales, como el rescate de embriones, para obtener descendencias, las cuales a menudo presentan un alto grado de esterilidad.

Una vez identificadas las accesiones de especies silvestres a utilizar un siguiente paso es la hibridación y derivación de materiales con introgresiones (Prohens et al., 2017). A este respecto, la hibridación entre la especie cultivada y sus silvestres relacionadas suele ser más complicada que el cruzamiento entre materiales de la especie cultivada (Harlan y de Wet, 1971; Jones, 2003). Aún en el caso de cruzamientos con especies del germoplasma primario en ocasiones la dificultad de cultivar plantas silvestres, debido a requerimientos específicos de fotoperiodo, y otros caracteres típicos de especies silvestres puede dificultar la obtención de híbridos (Prohens et al., 2017). Cuando los cruzamientos son con especies del germoplasma secundario o terciario

pueden aparecer barreras reproductivas precigóticas y postcigóticas (Tabla 1) que dificulten la obtención de híbridos interespecíficos (Khush y Brar, 1992). A este respecto existen distintas técnicas que, en determinados casos, pueden permitir la superación de dichas barreras (Tabla 1). Una alternativa a la hibridación sexual en cruzamientos alejados es la hibridación somática (Johnson y Veilleux, 2000), aunque el resultado, en caso de obtenerse, es un híbrido poliploide con el que puede ser difícil o imposible obtener descendencias.

Tabla 1. Barreras precigóticas y postcigóticas que pueden dificultar la hibridación interespecífica entre especies cultivadas y silvestres relacionadas y principales estrategias para superarlas (basado en Prohens et al., 2017).

Barrera	Estrategias para superarlas
<i>Precigóticas</i>	
Germinación del polen	Tratamientos químicos del estigma Excisión del estigma Utilización de la especie autocompatible como parental femenino cuando la incompatibilidad es unilateral
Desarrollo del tubo polínico	Mezcla de polen con polen compatible
Fertilización	Fertilización in vitro
<i>Postcigóticas</i>	
Desarrollo del embrión	Rescate de embriones y cultivo in vitro Cultivo de semillas inmaduras Modificación del nivel de ploidía

Cuando ya se dispone de híbridos interespecíficos es común recurrir a retrocruzamientos para desarrollar materiales con introgresiones de especies silvestres (Zamir, 2001; Gur y Zamir, 2004). La obtención de híbridos interespecíficos no es garantía de obtención de generaciones de retrocruzamiento, ya que éstos pueden ser total o parcialmente estériles (De Storme y Mason, 2004). Cuando la esterilidad no es total se puede recurrir a utilizar el híbrido interespecífico como parental femenino, ya que el polen debe tener alto vigor para germinar y alcanzar el óvulo, algo que no es necesario en el gameto femenino (Prohens et al., 2017). También la duplicación del genoma del híbrido en ocasiones permite restaurar la fertilidad del mismo (Khush y Brar, 1992; Shivanna y Bahadur, 2015) aunque se obtiene un poliploide. Cuando el número de cromosomas de la especie cultivada y la silvestre es el mismo y se duplica el cromosoma del híbrido interespecífico se obtiene un tetraploide, que en caso de ser fértil se puede retrocruzar con el parental silvestre al cual se le ha duplicado el genoma. Una vez obtenidas una o dos generaciones de retrocruzamiento mediante cultivo de anteras o microsporas se puede volver al estado diploide (Prohens et al., 2017). Un aspecto



importante en la obtención de retrocruzamientos es que a medida que se avanzan generaciones de retrocruzamiento, la fertilidad se recupera (Wall, 1970), facilitando la obtención de materiales con introgresiones.

El paso final en la introgresión para adaptación al cambio climático es la obtención de materiales que puedan ser fácilmente utilizados por el mejorador y que contengan en su conjunto una amplia diversidad procedente de especies silvestres (Prohens et al., 2017). Básicamente, mediante la selección asistida por marcadores en generaciones segregantes se pueden obtener distintos tipos de poblaciones, como colecciones de líneas de sustitución cromosómica (CSLs; “chromosome substitution lines”), cada una de las cuales contiene el genoma de la especie silvestre excepto para una pareja de cromosomas introducida desde la especie silvestre y entre todas representan el genoma de la especie silvestre (Cavanagh et al., 2008), líneas de introgresión (ILs; “introgression lines”) que contienen el fondo genético de la especie cultivada y una parte de un cromosoma de la especie silvestre, de forma que al igual que con las CSLs está representado todo, o la mayor parte, del genoma silvestre en la colección (Zamir, 2001), o poblaciones multiparentales avanzadas de entrecruzamientos (MAGIC; multi-parental advanced generation inter-cross) en que entre un conjunto de varios parentales, típicamente 8 o 16, se incluya una especie silvestre (Prohens et al., 2017). Cuando se utilizan varias especies silvestres para obtener estos tipos de poblaciones, este tipo de colecciones aumentan considerablemente la base genética del cultivo, al representar en el mismo el genoma completo de varias especies silvestres y pueden ser rápidamente incorporados en los programas de mejora para adaptación al cambio climático u otros caracteres de interés (Prohens et al., 2017).

7. Mejora participativa y evolutiva frente al cambio climático

La biodiversidad agrícola debe estar ligada con las estructuras y relaciones sociales. Los agricultores no suelen participar en los procesos de mejora y selección de los cultivos, adquiriendo la semilla certificada cada año que posteriormente van a sembrar. Las decisiones basadas en la rentabilidad y el beneficio económico han reemplazado a la cultura tradicional a la hora de elegir la variedad a cultivar (Hammer et al., 2003). Esto ha traído como consecuencia la desaparición progresiva de un conocimiento acumulado a lo largo de los años, así como de la mayoría de las variedades locales empleadas en la agricultura convencional.



En países en vías de desarrollo la situación no es tan crítica, existiendo, además proyectos de mejora participativa. Este tipo de iniciativas se están extendiendo de forma progresiva, impulsadas de alguna manera a partir de las variaciones provocadas por el cambio climático. Una de las ventajas de este tipo de mejora es la adopción inmediata por parte de los agricultores de las variedades obtenidas. Es el caso del CIMMYT con maíz en la región de Oaxaca (México) o el del arroz en el Nepal (Joshi et al., 2001).

En Colombia, en la zona de Cundinamarca, se lleva a cabo lo que han denominado IAP (Investigación Acción Participante) como estrategia comunitaria frente al cambio climático. Esto se ha centrado en acciones como el desarrollo de huertas biodinámicas para producción de hortalizas y plantas medicinales, cultivos asociados de judía con maíz para mejorar el suelo y aumentar la productividad, elaboración de panadería por las mujeres de la región, instalación de mercados ecológicos o creación de asociación de productores (Mendoza et al., 2015). En otros países como Nicaragua se desarrolló la variedad de café Marsellesa en 2013 proveniente de una mejora participativa entre pequeños productores y con buenos resultados de producción. Asimismo, en Camerún se realizaron experiencias similares con la obtención de nuevas variedades de cacao. En la región del Sahel en África, las variedades locales de mijo y de sorgo utilizadas por los agricultores familiares poseen una gran capacidad de adaptación a las variaciones climáticas en el tiempo y en el espacio, gracias especialmente a su fotoperiodismo. Se han obtenido variedades de sorgo resistentes a la sequía como Soumba y Gnessiconi en Burkina Faso y Mali mediante selección participativa junto con los mejoradores (Sourisseau, 2014).

Desde el año 2008 el Centro Internacional de la Papa (CIP), junto con la Red Latipapa, desarrolla programas de selección participativa en Perú para el desarrollo y transferencia de variedades de patata, mediante la metodología denominada MyB (Mamá y Bebé). Dicha técnica se basa fundamentalmente, en la participación activa de los agricultores y actores de la cadena en la selección de variedades, junto con los investigadores para la aplicación de los métodos de selección. De esta forma, se han liberado las variedades Unica, con tolerancia a las heladas y Serranita. En batata o camote se obtuvo la variedad INIA100 (de Haan et al., 2017).

Desde otro punto de vista, es necesario resaltar que la evolución es un cambio de la estructura genética de una población. Esta puede, o no, mejorar el grado de adaptación, entendida aquella como la capacidad para responder genéticamente o fenotípicamente al cambio de condiciones ambientales. También se relaciona con el concepto de eficacia o aptitud de un individuo para transferir sus genes a la próxi-



ma generación. Las causas de la evolución son la selección natural, las mutaciones y la deriva genética, siendo sólo la primera la que contribuye a mejorar el grado de adaptación. La mejora evolutiva basada en la creación de poblaciones variables que co-evolucionan de forma gradual en condiciones climáticas desfavorables es otra estrategia de adaptación al cambio climático. Los sistemas agrícolas diversificados como sistemas agroforestales, sistemas silvopastorales y policultivos, constituyen ejemplos de cómo los agroecosistemas complejos son capaces de adaptarse y evolucionar para resistir los efectos del cambio climático.

8. Aplicaciones de la genómica y nuevas técnicas de mejora para adaptación al cambio climático

Los nuevos desarrollos de la genómica y nuevas técnicas de mejora genética pueden contribuir efectivamente al desarrollo de nuevas variedades adaptadas a cambio climático (Jacobsen y Schouten, 2007; Hartung y Schiemann, 2014; Abberton et al., 2016; Prohens et al., 2017). En los últimos años gracias a los avances en nuevas técnicas de secuenciación ha tenido lugar un desarrollo espectacular en el desarrollo y disponibilidad de marcadores moleculares, mapas genéticos, secuencias de genomas y transcriptomas y anotaciones de genes (Pérez-de-Castro et al., 2012; Baute et al., 2015; Brozynska et al., 2016), que facilita la mejora genética para adaptación al cambio climático.

La disponibilidad de plataformas de alto rendimiento que permiten el genotipado de marcadores distribuidos a lo largo del genoma es de gran utilidad en el desarrollo de CSLs y de ILs (Zamir, 2001; Gur y Zamir, 2004; Pérez-de-Castro et al., 2012). De esta forma, se han conseguido este tipo de poblaciones en un amplio número de cultivos (Gur y Zamir, 2004; Dwidevi et al., 2008; Khlestkina et al., 2014). En algunos casos la obtención de estas colecciones de introgresión se ha realizado dirigida específicamente al análisis genético e introgresión de genes relacionados con adaptación al cambio climático. Por ejemplo, recientemente, Gramazio et al. (2017) han obtenido líneas de berenjena con introgresiones de *Solanum incanum*, una especie silvestres emparentada que crece en zonas desérticas y han identificado en las mismas 68 genes candidatos relacionados con tolerancia a la sequía. También la disponibilidad de un amplio número de marcadores permite el mapeo fino y delimitación de los fragmentos introgresados, así como la obtención de sublíneas de introgresión (subILs) mediante la detección de recombinantes (Wendler et al., 2015; King et al., 2016).



Así mismo, la disponibilidad de secuencias de genomas y transcriptomas, permite la identificación y búsqueda de variantes alélicas para genes de interés (Ramkumar et al., 2016). Además de éstas, existen otras muchas posibilidades de utilización de los marcadores genéticos y secuencias genómicas y transcriptómicas en mejora genética, las cuales se revisan en trabajos específicos dedicados a ello (Pérez-de-Castro et al., 2012; Baute et al., 2015; Kole et al., 2015; Brozynska et al., 2016).

Además de las técnicas derivadas de la genómica, que permiten mejorar la eficiencia de los programas de mejora, existen otras técnicas que pueden permitir ampliar la variación disponible para el mejorador (Tester y Langridge, 2010; Hartung y Schiemann, 2014). Una de ellas es la transformación genética, en la que mediante la inserción de genes y secuencias reguladoras de otros organismos es posible obtener fenotipos que no serían posibles mediante hibridación o mutación. Así, se han obtenido plantas transgénicas en distintos cultivos con mayor tolerancia a sequía y a salinidad (Bita y Gerats, 2013; Lawlor, 2013; Fita et al., 2015), estreses abióticos que serán más frecuentes con el cambio climático (Rosenzweig et al., 2014). Así, recientemente se han liberado las primeras variedades de maíz transgénico con tolerancia a la sequía (Nemali et al., 2015). También, la obtención de plantas transgénicas para otros caracteres, como resistencia a plagas y enfermedades ha probado ser de gran utilidad, con nuevos fenotipos e importantes mejoras, siendo cultivadas en más de 185 millones de hectáreas en 2016 (ISAAA, 2016). Sin embargo, en muchos países, y particularmente en Europa, existe un rechazo social a los cultivos transgénicos y la legislación es muy estricta para la autorización de nuevas variedades y cultivos transgénicos (Lutz, 2015).

Una alternativa a las plantas transgénicas para aumentar la variación disponible para el mejorador son las denominadas “nuevas técnicas de mejora genética” (NPBT; new plant breeding techniques) (Lusser et al., 2011; Hartung y Schiemann, 2014). Entre estas se encuentra la cisgénesis (Jacobsen y Schouten, 2007), que consiste en la transformación genética utilizando genes procedentes de especies sexualmente compatibles con el cultivo sin que en el resultado final existan genes marcadores o seleccionables procedentes de otros organismos (Cardi, 2016). A pesar de su potencial, la cisgénesis ha sido poco utilizada para tolerancia a estreses abióticos; en cambio, ha demostrado su utilidad en conferir resistencia a estreses bióticos (Park et al., 2009). Sin embargo, a pesar de que las plantas cisgénicas son similares a las obtenidas por técnicas convencionales, como aquellas obtenidas por translocación inducida (Jacobsen y Schouten, 2007), en determinados países, la incertidumbre legal dificulta su uso (Hartung y Schiemann, 2014).



Otra de las nuevas técnicas muy prometedoras entre las NPBT es la edición genética basada en el sistema CRISPR/Cas9 (Belhaj et al., 2013; Kole et al., 2015; Cardi, 2016). Mediante este sistema es posible la modificación de la secuencia de genes y reguladores, siendo la secuencia final obtenida indistinguible de una mutación espontánea (Cardi, 2016). Es por ello, que la edición genética mediante CRISPR/Cas9 ofrece un amplio potencial en la mejora genética de plantas, incluyendo el desarrollo de plantas adaptadas a cambio climático. Por ejemplo, en maíz, mediante la modificación mediada por CRISPR/Cas9 de un gen regulador de la respuesta a etileno, se han creado variantes alélicas que confieren una mayor tolerancia a la sequía (Shi et al., 2017), demostrando el potencial de esta tecnología para obtener plantas con mayor adaptación al cambio climático. No obstante, al igual que el resto de NPBT, entre las que se incluyen mutagénesis dirigida, la metilación de ADN dependiente de ARN, o la mejora reversa (reverse breeding) (Hartung y Schiemann, 2014), la legislación aplicable a la edición genética está en discusión en muchos países, existiendo también un alto grado de escepticismo entre los consumidores sobre su seguridad (Lusser et al., 2011; Hartung y Schiemann, 2014).

9. Conclusiones

El cambio climático supone un reto sin precedentes para los mejoradores, los cuales debemos obtener variedades que permitan seguir aumentando la producción y la calidad de los cultivos en un escenario de cambio climático. Ello va a requerir realizar un énfasis en la tolerancia a estreses abióticos y bióticos, que se verán intensificados por el cambio climático, y en la resiliencia de los cultivos. Especial atención requiere la erosión genética causada por el cambio climático, tanto en las especies cultivadas como en las silvestres relacionadas, por lo que es necesario adoptar medidas para su conservación. La mejora para adaptación al cambio climático puede beneficiarse de la variación disponible en las especies silvestres relacionadas y en las razas locales adaptadas a ambientes extremos. A este respecto, la aplicación de nuevas aproximaciones como la introgresión, puede permitir ampliar considerablemente la base genética de los cultivos. Esas nuevas aproximaciones, utilizando las herramientas disponibles para el mejorador, en combinación con programas de mejora participativa y evolutiva, son necesarias para el desarrollo de una nueva generación de variedades que permitan hacer frente al escenario de cambio climático. Confiamos que, al igual que ha ocurrido en el último siglo, los desarrollos actuales y futuros en genética y mejora vegetal permitan afrontar exitosamente este importante reto.



10. Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado como parte de la iniciativa “Adapting Agriculture to Climate Change: Collecting, Protecting and Preparing Crop Wild Relatives” la cual cuenta con el apoyo del Gobierno de Noruega. El proyecto es gestionado por Global Crop Diversity Trust con el Millenium Seed Bank de los Royal Botanic Gardens, Kew (UK) e implementado en colaboración con bancos de germoplasma nacionales e internacionales e institutos de mejora genética de todo el mundo. Para más información dirigirse a la página web del proyecto: <http://www.cwrdiversity.org/>. Pietro Gramazio agradece a la Universitat Politècnica de València la concesión de un contrato predoctoral (Programa FPI de la UPV convocatoria UPV-Subprograma1/2013).

11. Bibliografía

- Abberton, M.; Batley, J.; Bentley, A.; Bryant, J.; Cai, H.; Cockram, J.; Costa de Oliveira, A.; Cseke, L.J.; Dempewolf, H.; De Pace, C.; Edwards, D.; Gepts, P.; Greenland, A.; Hall, A.; Henry, J.; Hori, K.; Howe, G.T.; Hughes, S.; Humphreys, M.; Lightfoot, D.; Marshall, A.; Mayes, S.; Nguyen, H.T.; Ogonnaya, F.C.; Ortiz, R.; Paterson, A.H.; Tuberosa, R.; Valliyodan, B.; Varshney, R.K.; Yano, M. 2016. Global agricultural intensification during climate change: a role for genomics. *Plant Biotechnology Journal* 14:1095-1098.
- Altieri, M.A.; Nicholls, C.I. 2013. Agroecología y resiliencia al cambio climático: principios y consideraciones metodológicas. *Agroecología* 8:7-20.
- Anwar, M.J.; Liu, D.L.; Macadam, I.; Kelly, G. 2013. Adapting agriculture to climate change: a review. *Theoretical and Applied Climatology* 113:225-245.
- Araújo, M.B.; Cabeza, M.; Thuiller, W.; Hannah, L.; Williams, P.H. 2004. Would climate change drive species out of reserves? An assessment of existing reserve-selection methods. *Global Change Biology* 11:1504-1513.
- Ashraf, M. 2002. Salt tolerance of cotton: some new advances. *Critical Reviews in Plant Science* 21:1-30.
- Bari, A.; Street, K.; Mackay, M.; Endresen, D.T.F.; De Pauw, E.; Amri, A. 2012. Focused Identification of Germplasm Strategy (FIGS) detects wheat stem rust resistance linked to environmental variables. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59:1465-1481.
- Baute, G.J.; Dempewolf, H.; Rieseberg, L. 2015. Using genomic approaches to unlock the potential of CWR for crop adaptation to climate change, pp. 268-280. En: Red-



- den, R.; Yadav, S.; Maxted, N.; Dulloo, M.E.; Guarino, L.; Smith, P. (eds.) *Crop wild relatives and climate change*. Wiley, Hoboken, NJ, USA.
- Bebber, D.P.; Ramotowski, M.A.T.; Gurr, S.J. 2013. Crop pests and pathogens move polewards in a warming world. *Nature Climate Change* 3:985-988.
- Bedogni, M.C.; Capezio, S.; Huarte, M. 2009. Comportamiento frente a estrés hídrico de variedades nativas y especies silvestres de papa. *Revista Latinoamericana de la Papa* 15:72-74.
- Belhaj, K.; Chaparro-Garcia, A.; Kamoun, S.; Nekrasov, V. 2013. Plant genome editing made easy: targeted mutagenesis in model and crop plants using the CRISPR/Cas system. *Plant Methods* 9:39.
- Bellon, M.R.; van Etten, J. 2014. Climate change and on-farm conservation of crop landraces in centres of diversity, pp. 137-150. En: Jackson, M.; Ford-Lloyd, B.; Parry, M. (eds.) *Plant genetic resources and climate change*. CAB International, Wallingford, Reino Unido.
- Betts, R.A.; Jones, C.D.; Knight, J.R.; Keeling, R.F.; Kennedy, J.J. 2016. El Niño and a record CO₂ rise. *Nature Climate Change* 6:806-810.
- Bitá, C.E.; Gerats, T. 2013. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat-stress tolerant crops. *Frontiers in Plant Science* 4:273.
- Broecker, W.S. 2001. Was the medieval warm period global?. *Science* 291:1497-1499.
- Brozynska, M.; Furtado, A.; Henry, R.J. 2016. Genomics of crop wild relatives: expanding the gene pool for crop improvement. *Plant Biotechnology Journal* 14:1070-1085.
- Burke, M.B.; Lobell, D.B.; Guarino, L. 2009. Shifts in African crop climates by 2050, and the implications for crop improvement and genetic resources conservation. *Global Environmental Change* 19:317-325.
- Cardi, T. 2016. Cisgenesis and genome editing: combining concepts and efforts for a smarter use of genetic resources in crop breeding. *Plant Breeding* 135:139-147.
- Carrillo, J.M. 2016. Erosión genética y reemplazo de variedades tradicionales, pp. 29-41. En: Ruiz de Galarreta, J.I.; Prohens, J.; Tierno, R. (eds.) *Las variedades locales en la mejora genética de plantas*. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, Vitoria.
- Carrillo, J.M.; Díez, M.J.; Pérez de la Vega, M.; Nuez, F. 2010. Los recursos Fitogenéticos en la mejora genética vegetal. En J.M. Carrillo et al. (eds.). *Mejora genética y recursos fitogenéticos: nuevos avances en la conservación y utilización de los recursos fitogenéticos*. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Madrid. 8 pp.

- Castañeda-Alvarez, N.P.; Khoury, C.; Achicanoy, H.A.; Bernau, V.; Dempewolf, H.; Eastwood, R.J.; Guarino, L.; Harker, R.H.; Jarvis, A.; Maxted, N.; Müller, J.V.; Ramirez-Villegas, J.; Sosa, C.C.; Struik, P.C.; Vincent, H.; Toll, J. 2016. Global conservation priorities for crop wild relatives. *Nature Plants* 2:16022.
- Cavanagh, C.; Morell, M.; Mackay, I.; Powell, W. 2008. From mutations to MAGIC: resources for gene discovery, validation and delivery in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology* 11:215-221.
- Ceccarelli, S.; Grando, S.; Maatougui, M.; Michael, M.; Slash, M.; Haghparast, R.; Rahmanian, M.; Taheri, A.; Al-Yassin, A.; Benbelkacem, A.; Labdi, M.; Mimoun, H.; Nachit, M. 2010. Plant breeding and climate changes. *Journal of Agricultural Science* 148: 627-637.
- Chakraborty, S. 2013. Migrate or evolve: options for plant pathogens under climate change. *Global Change Biology* 19:1985-2000.
- Císcar, J.C. 2009. Climate change impacts in Europe: final report of the PESETA Research project. European Commission – Joint Research Centre, Sevilla.
- Cuartero J.; Romero-Aranda, R.; Yeo, A.R.; Flowers T.J. 2002. Variability for some physiological characters affecting salt tolerance in tomato. *Acta Horticulturae* 573:435-441.
- Cubero, J.I. 2013. Introducción a la mejora genética vegetal. Mundiprensa, Madrid.
- Cubero, J.I. 2016. De las plantas silvestres a las variedades tradicionales: domesticación y evolución, pp. 9-27. En: Ruiz de Galarreta, J.I.; Prohens, J.; Tierno, R. (eds.) *Las variedades locales en la mejora genética de plantas*. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, Vitoria.
- Cuevas-Reyes P. 2010. Importancia de la resiliencia biológica como posible indicador del estado de conservación de los ecosistemas: implicaciones en los planes de manejo y conservación de la biodiversidad. *Biológicas* 12: 1-7.
- Darnhofer, I. 2014. Resilience and why it matters for farm management. *European Review of Agricultural Economics* 41:461-484.
- De Haan, S.; Salas, E.; Fonseca, C.; Gastelo, M.; Amaya, N.; Bastos, C.; Hualla, V.; Bonierbale M. 2017. Selección participativa de variedades de papa (SPV) usando el diseño mamá y bebé: una guía para capacitadores con perspectiva de género. Centro Internacional de la Papa, Lima, Peru. 82 pp.
- De Storme, N.; Mason, A. 2014. Plant speciation through chromosome instability and ploidy change: Cellular mechanisms, molecular factors and evolutionary relevance. *Current Plant Biology* 1:10-33.



- Dempewolf, H.; Baute, G.; Anderson, J.; Kilian, B.; Smith, C.; Guarino, L. 2017. Past and future use of wild relatives in crop breeding. *Crop Science* 57:1070-1082.
- Dempewolf, H.; Eastwood, R.J.; Guarino, L.; Khoury, C.K.; Müller, J.V.; Toll, J. 2014. Adapting agriculture to climate change: a global initiative to collect, conserve, and use crop wild relatives. *Agroecology and Sustainable Food Systems* 38:369-377.
- Dobra, J.; Motyka, V.; Dobrev, P.; Malbeck, J.; Prasil, I. T.; Haisel, D.; Gaudinova, A.; Havlova, M.; Gubis, J. y Vankova, R. 2010. Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content. *Journal of Plant Physiology* 167:1360-1370.
- Dwivedi, S.L.; Upadhyaya, H.D.; Stalker, H.T.; Blair, M.W.; Bertoli, D.J.; Nielen, S.; Ortiz, R. 2008. Enhancing crop gene pools with beneficial traits using wild relatives. *Plant Breeding Reviews* 30:179-230.
- FAO. 2010. The second report on the state of the World's plant genetic resources for food and agriculture. Food and Agriculture Organization, Roma, Italia.
- Fita, A.; Rodríguez-Burruezo, A.; Boscaiu, M.; Prohens, J.; Vicente, O. 2015. Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: a new paradigm for increasing food production. *Frontiers in Plant Science* 6:978.
- Foolad, M. R. 2007. Tolerance to Abiotic Stresses. En: Razdan, M. K. y Matoo, A. K. Eds. *Genetic Improvement of Solanaceous Crops, vol 2: Tomato*. Science Publishers, Enfield, USA. pp. 521-590.
- Ford-Lloyd, B.; Engels, J.M.M.; Jackson, M. 2014. Genetic resources and conservation challenges under the threat of climate change, pp. 16-37. En: Jackson, M.; Ford-Lloyd, B.; Parry, M. (eds.) *Plant genetic resources and climate change*. CAB International, Wallingford, Reino Unido.
- Fowler, C. 2016. Seeds on ice in the Arctic Circle, the Svalbard Global Seed Vault is not waiting for doomsday, but is a secure backup for crop diversity. *American Scientist* 104:304-308.
- Gramazio, P.; Prohens, J.; Plazas, M.; Mangino, G.; Herraiz, F.J.; Vilanova, S. 2017. Development and characterization of advanced backcross materials and an introgression line population of *Solanum incanum* in a *S. melongena* background. *Frontiers in Plant Science* 8:1477.
- Guarino, L.; Lobell, D.B. 2011. A walk on the wild side. *Nature Climate Change* 1:374-375.
- Guerrero, R.F.; Posto, A.L.; Moyle, L.C.; Hahn, M.W. 2016. Genome-wide patterns of regulatory divergence revealed by introgression lines. *Evolution* 70:696-706.



- Gur, A.; Zamir, D. 2004. Unused natural variation can lift yield barriers in plant breeding. *PLOS Biology* 2:e245.
- Hajjar, R.; Hodgkin, T. 2007. The use of crop wild relatives in crop improvement: a survey of developments over the last 20 years. *Euphytica* 156:1-13.
- Hamada E.; Ghini R. 2011. Impactos del cambio climático en plagas y enfermedades de las plantas en Brasil. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2:195-205.
- Hannukkala A.O.; Kaukoranta T.; Lehtinen A.; Rahkonen A. 2007. Late-blight epidemics on potato in Finland, 1933–2002; increased and earlier occurrence of epidemics associated with climate change and lack of rotation. *Plant Pathology* 56: 167-176.
- Hammer, K.; Gladis, T.; Diederichsen, A. 2003. In situ and on-farm management of plant genetic resources. *European Journal of Agronomy* 19:509-517.
- Harlan J.R. 1975. Our Vanishing Genetic Resources. *Science* 188:618-621.
- Harlan, J.R.; de Wet, J.M.J. 1971. Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20:509-517.
- Hartung, F.; Schiemann, J. 2014. Precise plant breeding using new genome editing techniques: opportunities, safety and regulation in the EU. *Plant Journal* 78:742-752.
- Igartua, E.; Gracia, M.P. 1999. Divergent selection for salinity tolerance at germination-emergence stage in grain sorghum. *Maydica* 43:161-168.
- IPCC. 2014. Climate change synthesis report 2014. Intergovernmental Panel on Climate Change, Ginebra, Suiza.
- ISAAA. 2016. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2016. ISAAA Brief No. 52. ISAAA, Ithaca, NY, USA.
- Jacobsen, E.; Schouten, H.J. 2007. Cisgenesis strongly improves introgression breeding and induced translocation breeding of plants. *Trends in Biotechnology* 25:219-223.
- Jarvis, A.; Lane, A.; Hijmans, R.J. 2008. The effect of climate change on crop wild relatives. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 126:13-23.
- Johnson, A.A.T.; Veilleux, R.E. 2000. Somatic hybridization and applications in plant breeding. *Plant Breeding Reviews* 20:167-225.
- Jones, T.A. 2003 The restoration gene pool concept: beyond the native versus non-native debate. *Restoration Ecology* 11:281-290.
- Joshi K.D.; Sthapit B.R.; Witcombe J.R. 2001. How narrowly adapted are the products of decentralised breeding?. The spread of rice varieties from a participatory plant breeding programme in Nepal. *Euphytica* 122:589-597.



- Khazaei, H.; Street, K.; Bari, A.; Mackay, M.; Stoddard, F.L. 2013. The FIGS (Focused Identification of Germplasm Strategy) approach identifies traits related to drought adaptation in *Vicia faba* genetic resources. PLOS ONE 8:e63107.
- Khlestkina, E.K. 2014. Current applications of wheat and wheat-alien precise genetic stocks. Molecular Breeding 34:273-281.
- Khush, G.S.; Brar, D.S. 1992. Overcoming the barriers in hybridization, pp 47-61. En: Kalloo, G.; Chowdhury, J.B. (eds.) Distant hybridization of crop plants. Springer, Berlin, Alemania.
- King, J.; Grewal, S.; Yang, C.; Hubbart, S.; Scholefield, D.; Ashling, S.; Edwards, K.J.; Allen, A.M.; Burrige, A.; Bloor, C.; Davassi, A.; da Silva, G.J.; Chalmers, K.; King, I.P. 2016. A step change in the transfer of interspecific variation into wheat from *Amblyopyrum muticum*. Plant Biotechnology Journal 15:217-226.
- Kole, C.; Muthamilarasan, M.; Henry, R.; Edwards, D.; Sharma, R.; Abberton, M.; Batley, J.; Bentley, A.; Blakeney, M.; Bryant, J.; Cai, H.; Cakir, M.; Cseke, L.J.; Cockram, J.; de Oliveira, A.C.; De Pace, C.; Dempewolf, H.; Ellison, S.; Gepts, P.; Greenland, A.; Hall, A.; Hori, K.; Hughes, S.; Humphreys, M.W.; Iorizzo, M.; Ismail, A.B.; Marshall, A.; Mayes, S.; Nguyen, H.T.; Ogonnaya, F.C.; Ortiz, R.; Paterson, A.H.; Simon, P.W.; Tohme, J.; Tuberosa, R.; Valliyodan, B.; Varshney, R.K.; Wullschlegel, S.D.; Yano, M.; Prasad, M. (2015) Application of genomics-assisted breeding for generation of climate resilient crops: progress and prospects. Frontiers in Plant Science 6:563.
- Lawlor, D.W. 2013. Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. Journal of Experimental Botany 64:83-108.
- Lema M.; Soengas P.; Velasco P.; Cartea M.E. 2010. Las razas locales como reservorio de variabilidad genética. En Carrillo et al. (eds). Mejora genética y recursos fitogenéticos. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Madrid. 563 p.
- Lusser, M.; Parisi, C.; Plan, D.; Rodríguez-Cerezo, E. 2011. New plant breeding techniques: state-of-the-artt and prospects for commercial development. Reference Report by the Joint Research Centre of the European Commission. Publications Office of the European Union, Luxembourg, Luxemburgo.
- Lutz, J.M. 2015. Public acceptance of plant biotechnology and GM crops. Viruses 7:4254-4281.



- Maxted, N.; Dulloo, E.; Ford-Lloyd, B.V.; Iriondo, J.M.; Jarvis, A. 2008. Gap analysis: a tool for complementary genetic conservation assessment. *Diversity and Distributions* 14:1018-1030.
- McIntosh, R.A. 1992. Pre-emptive breeding to control wheat rusts. *Euphytica* 63:103-113.
- Mendoza, S.A.; Cano J.G.; Rojas F. 2015. Acción comunitaria frente al fenómeno del cambio climático en el páramo de la región del Guavio, Cundinamarca, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 6:267-279.
- Meyer, R.S.; Purugganan, M.D. 2013. Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nature Reviews Genetics* 14:840-852.
- Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* 167: 645-663.
- Munns, R.; James, R.A.; Xu, B., Athman, A.; Conn, S.J.; Jordans C.; Byrt, C.S.; Hare, R.A.; Tyerman, S.D.; Tester M.; Plett, D.; Gilliam, M. 2012. Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene. *Nature Biotechnology* 30: 360-366.
- Nemali, K.S.; Bonin, C.; Dohleman, F.G.; Stephens, M.; reeves, W.R.; Nelson, D.E.; castiglioni, P.; Whitsel, J.E.; Sammons, B.; Silady, R.A.; Anstrom, D.; Sharp, R.E.; Patharkar, O.R.; Clay, D.; Coffin, M.; Nemeth, M.A.; Leibman, M.E.; Luethy, M.; Lawson, M. 2015. Physiological responses related to increased grain yield under drought in the first biotechnology-derived drought-tolerant maize. *Plant, Cell, and Environment* 38:1866-1880.
- Nicholls, R.J.; Tol, R.S.J. 2006. Impacts and responses to sea-level rise: a global analysis of the SRES scenarios over the twenty-first century. *Physiological Transactions of the Royal Society A – Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 364:1073-1095.
- Pandey, S.K.; Nookarajua, A.; Upadhyaya, C.P.; Gururani, M.A.; Venkatesh, J.; Kim, D.H.; Park, S.W. 2011. An update on biotechnological approaches for improving abiotic stress tolerance in tomato. *Crop Science* 51:2303-2324.
- Park, T.H.; Vleeshouwers, V.G.A.A.; Jacobsen, E.; van der Vossen, E.; Visser, R.G.F. 2009. Molecular breeding for resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in potato (*Solanum tuberosum* L.): a perspective of cisgenesis. *Plant Breeding* 128:109-117.
- Parra-Quijano, M.; Iriondo, J.M.; Torres, E. 2011. Improving representativeness of genebank collections through species distribution models, gap analysis and ecogeographical maps. *Biodiversity and Conservation* 21:79-96.



- Parry, M.L.; Canziani, O.F.; Palutikof, J.P.; van der Linden, P.J.; Hanson, C.E. 2007. Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 982 pp.
- Pauls, S.U.; Nowak, C.; Bálint, M.; Pfenninger, M. 2013. The impact of global climate change on genetic diversity within populations and species. *Molecular Ecology* 22:925-946.
- Pérez-de-Castro, A.M.; Vilanova, S.; Cañizares, J.; Pascual, L.; Blanca, J.M.; Díez, M.J.; Prohens, J.; Picó, B. 2012. Application of genomic tools in plant breeding. *Current Genomics* 13:179-195.
- Perez-Hedo, M.; Urbaneja, A. 2015. Resiliencia en hortalizas: el cultivo del tomate. *Agrícola Vergel* 165-167.
- Prohens, J.; Gramazio, P.; Plazas, M.; Dempewolf, H.; Kilian, B.; Díez, M.J.; Fita, A.; Herranz, F.J.; Rodríguez-Burruezo, A.; Soler, S.; Knapp, S.; Vilanova, S. 2017. Introgressions: a new approach for using crop wild relatives for adaptation to climate change. *Euphytica* 213:158.
- Qin, F.; Kakimoto, M.; Sakuma, Y.; Maruyama, K.; Osakabe, Y.; Tran, L.S.P. 2007. Regulation and functional analysis of ZmDREB2A in response to drought and heat stress in *Zea mays* L. *Plant Journal* 50:54-69.
- Ramírez-Villegas, J.; Khoury, C.; Jarvis, A.; Debouck, D.G.; Guarino, L. 2010. A gap analysis methodology for collecting crop gene pools: A case study with *Phaseolus* beans. *PLOS ONE* 5:e13497.
- Ramkumar, Madhav, M.S.; Rama Devi, S.J.S.; Umakanth, B.; Pandey, M.K.; Prasad, M.S.; Sundaram, R.M.; Viraktamath, B.C.; Ravindra Babu, V. 2016. Identification and validation of novel alleles of rice blast resistant gene *Pi54*, and analysis of their nucleotide diversity in landraces and wild *Oryza* species. *Euphytica* 209:725-737.
- Reynolds, M.P.; Trethowan, R.M. 2007. Physiological interventions in breeding for adaptation to abiotic stress. En J.H.J. Spiertz, P.C. Struik and H.H. van Laar (eds.), *Scale and Complexity in Plant Systems Research: Gene-Plant-Crop Relations*, 129-146. Springer. Holanda.
- Romagosa, I.; Voltas, J.; Malosetti, M.; van Eeuwijk, F.A. 2008. Interacción genotipo por ambiente. En Avial et al. (eds). *La adaptación al ambiente y los estreses abióticos en la mejora genética vegetal*. IFAPA. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla. 107-136.



- Ruiz de Galarreta, J.I.; Ezpeleta, B.; Pascualena, J.; Ritter E. 2006. Combining ability and correlations in early generations of potato. *Plant Breeding* 125:183-186.
- Richerson, P.J.; Boyd, R.; Bettinger, R.L. 2001. Was Agriculture imposible during the Pleistocene but mandatory during the Holocene? A climate change hypothesis. *American Antiquity* 66:387-411.
- Rosenzweig, C.; Elliott, J.; Deryng, D.; Ruane, A.C.; Müller, C.; Arneth, A.; Boote, K.J.; Folberth, C.; Glotter, M.; Khabarov, N.; Neumann, K.; Piontek, F.; Pugh, T.A.M.; Schmid, E.; Stehfest, E.; Yang, H.; Jones, J.W. 2014. Assessing agricultural risks of climate change in the 21st century in a global gridded crop model intercomparison. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 111:3268-3273.
- Saint-Pierre, C.; Peterson, C.W.; Ross A.S.; Ohm, J.B.; Verhoeven, M.C.; Larson M.; Hoefler, B. 2008. White wheat grain quality changes with genotype, nitrogen fertilization, and water stress. *Agronomy Journal* 100:414-420.
- Schönhals, E.M.; Ortega, F.; Barandalla, L.; Aragones, A.; Ruiz de Galarreta, J.I.; Liao, J.C.; Sanetomo, R.; Walkemeir, B.; Tacke, E.; Ritter, E.; Gebhardt G. 2017. Identification and reproducibility of diagnostic DNA markers for tuber starch and yield optimization in a novel association mapping population of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 129:767-785.
- Shi, J.; Gao, H.; Wang, H.; Lafitte, R.; Archibald, R.L.; Yang, M.; Hakimi, S.M.; Mo, H.; Habben, J.E. 2017. ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. *Plant Biotechnology Journal* 15:207-216.
- Shivanna, K.R.; Bahadur, B. 2015. Efficacy of biotechnological approaches to raise wide sexual hybrids, pp. 347-362. En: Bahadur, B.; Rajam, M.V.; Sahijram, L.; Krishnamurthy, K.V. (eds.) *Plant biology and biotechnology: Volume II: Plant genomics and biotechnology*. Springer India, New Delhi, India.
- Singh S.P. 2007. Drought resistance in the Race Durango dry bean landraces and cultivars. *Agronomy Journal* 99:1229-1225.
- Solomon S. 2007. *Climate Change: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK, New York, USA.
- Sourisseau J. M. 2014. *Agriculturas familiares*. Agropolis international. Montpellier, Francia, 64 p.
- Street, K.; Bari, A.; Mackay, M.; Amri, A. 2016. How the Focused Identification of Germplasm Strategy (FIGS) is used to mine plant genetic resources collections for



- adaptive traits, pp. 54-63. En: Maxted, N.; Dulloo, M.E.; Ford-Lloyd, B.V. (eds.) Enhancing crop genepool use: Capturing wild relative and landrace diversity for crop improvement. CAB International, Wallingford, Reino Unido.
- Syfert, M.M.; Castañeda-Álvarez, N.P.; Khoury, C.; Särkinen, T.; Sosa, C.C.; Achicanoy, H.A.; Bernau, V.; Prohens, J.; Daunay, M.C.; Knapp, S. 2016. Crop wild Relatives of the brinjal eggplant (*Solanum melongena*): Poorly represented in genebanks and many species at risk of extinction. *American Journal of Botany* 103:635-651.
- Tollenaar M., Lee E.A. 2006. Dissection of physiological processes underlying grain yield in maize by examining genetic improvement and heterosis. *Maydica* 51:399-408.
- Tester, M.; Langridge, P. 2010. Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science* 327:818-822.
- Valkoun, J.J. 2001. Wheat pre-breeding using wild progenitors. *Euphytica* 119:17-23.
- Van de Wouw, M.; Kik, C.; van Hintum, T.; van Treuren, R.; Visser, B. 2010. Genetic erosion in crops: concept, research results and challenges. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 8:1-15.
- Verlaan, M.G.; Szinay, D.; Hutton, S.F.; de Jong, H.; Kormelink, R.; Visser, R.G.F.; Scott, J.W.; Bai, Y. 2011. Chromosomal rearrangements between tomato and *Solanum chilense* hamper mapping and breeding of TYLCV resistance gene *Ty-1*. *Plant Journal* 68:1093-1103.
- Wall, J.R. 1970. Experimental introgression in the genus *Phaseolus*. I. Effect of mating systems on interspecific gene flow. *Evolution* 24:356-366.
- Wanner, H.; Beer, J.; Bütikofer, J.; Crowley, T.J.; Cubash, U.; Flückiger, J.; Goose, H.; Grosjean, M.; Joos, F.; Kaplan, J.O.; Küttel, M.; Müller, S.A.; Prentice, C.; Solomina, O.; Stocker, T.F.; Tarasov, P.; Wagner, M.; Widmann, M. 2008. Mid- to Late Holocene climate change: an overview. *Quaternary Science Reviews* 27:1791-1828.
- Wendler, N.; Mascher, M.; Himmelbach, A.; Johnston, P.; Pickering, R.; Stein, N. 2015. *Bulbosum* to go: a toolbox to utilize *Hordeum vulgare/bulbosum* introgressions for breeding and beyond. *Molecular Plant* 8:1507-1519.
- Weyhrich, R.A.; Lamkey, K.R.; Hallauer, A.R. 1998. Response to seven methods of recurrent selection in the BS1 maize population. *Crop Science* 38:308-321.
- Woo, J.W.; Kim, J.; Kwon, S.I.; Corvalán, C.; Cho, S.W. 2015. DNA-free genome editing in plants with preassembled CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins. *Nature Biotechnology* 33:1162-1164.
- Woods, A.J.; Heppner, D.; Kope, H.; Burleigh, J.; Maclauchlan, L. 2010. Forest health and climate change: a British Columbia perspective. *Forestry Chronicle* 86:412-422.



- Wright, H.E.; Thrope, J.L. 2003. Climate change and the origin of Agriculture in the Near East, pp. 49-62. En: Mackay, A.; Battarbee, R.; Birks, J.; Oldfield, F. (eds.) Global change in the Holocene, Routledge, Londres, Reino Unido.
- Zalasiewicz, J.; Williams, M. 2016. A geological history of climate change, pp. 3-17. En: Letcher, T.M. (ed.) Climate change: observed impacts on plante Earth. Elsevier, Amsterdam, Países Bajos.
- Zamir, D. 2001. Improving plant breeding with exotic genetic libraries. Nature Reviews Genetics 2:983-989.



Capítulo II.

RETOS QUE DEBEN AFRONTAR LOS BANCOS DE GERMOPLASMA COMO RECURSO PARA HACER FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO

M^a José Díez^{1*}, Cristina Mallor², José Miguel Blanca¹ y Lucía De la Rosa³

- 1 Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV). Universitat Politècnica de València.
- 2 Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Instituto Agroalimentario de Aragón IA2 (CITA - Universidad de Zaragoza).
- 3 Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos (CRF), Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Alcalá de Henares, Madrid.

*Coordinador: mdiezni@btc.upv.es





CONTENIDO:

1. Introducción
2. Sabiendo qué está conservado, dónde está y cómo está
3. Asegurando el mantenimiento de los recursos fitogenéticos: racionalizando colecciones y estableciendo duplicados de seguridad.
4. Mejorando la documentación
5. Incrementando las colecciones
 - 5.1. Especies silvestres emparentadas con los cultivos
 - 5.2. Aumentando el rango de especies para la alimentación: incrementar y potenciar el uso de especies minoritarias e infrautilizadas
6. Colaborando en la caracterización y evaluación
7. Integrando los datos de secuenciación para facilitar el manejo de las colecciones de germoplasma
8. Facilitando el acceso a los recursos fitogenéticos
9. Agradecimientos
10. Bibliografía

Capítulo II.

RETOS QUE DEBEN AFRONTAR LOS BANCOS DE GERMOPLASMA COMO RECURSO PARA HACER FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO

1. Introducción

Los bancos de germoplasma conservan una amplia diversidad de materiales incluyendo cultivares modernos, cultivares obsoletos, variedades locales o tradicionales, líneas de mejora, colecciones de mutantes y especies silvestres emparentadas con los cultivos (denominadas parientes silvestres de los cultivos -PSC- en castellano y crop wild relatives -CWR- en inglés), que alimentan directamente los programas de mejora, proporcionando los materiales base, a partir de los cuales se desarrollarán las nuevas variedades. Los mejoradores conservan sus recursos vegetales y disponen de sus propias colecciones de germoplasma, pero sólo los bancos debidamente organizados, tienen la capacidad de conservar a corto y largo plazo una gran diversidad de materiales, atendiendo las necesidades de los diversos actores implicados y para distintos propósitos, tanto actuales como futuros. Los bancos de germoplasma pueden también contribuir a la investigación que lleva al desarrollo de nuevos cultivares, proporcionar directamente semilla a los agricultores y, en el caso de bancos que conservan plantas de multiplicación vegetativa *in vitro*, distribuir material libre de virus, contribuyendo así al saneamiento de los cultivos. También, los bancos deben ser una reserva de semillas de utilización directa en caso de desastres, como ya ha ocurrido con las guerras de Angola o Ruanda, o de tipo ambiental como el huracán Mitch en América Central (FAO, 2015a), en estos casos, las semillas proporcionadas por determinados bancos de germoplasma supusieron la recuperación de algunos cultivos en una agricultura devastada por estos motivos. Finalmente, citar el uso de semillas enviadas por el International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA) a la Bóveda global de semillas de Svalbard, estas semillas han sido enviadas a las nuevas instalaciones de

esta organización en Líbano y Marruecos que han sustituido al banco originalmente situado en Alepo, Siria (Bhattacharya, 2016).

La mayoría de bancos de germoplasma de pequeño tamaño proporcionan semillas a nivel nacional y local. Sin embargo, los centros pertenecientes al Consultative Group for International Agricultural Research (CGIAR) y otros grandes bancos nacionales como los de Australia, Brasil, Canadá, China, Alemania, Holanda, Federación Rusa, Estados Unidos y el Banco Nórdico o el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) distribuyen muestras a nivel internacional. El World Vegetable Center de Taiwán es también uno de los bancos más importantes a nivel mundial, solamente entre este centro y los del CGIAR se distribuyeron más de un millón de muestras en un periodo de 12 años hasta 2010 (Lusty et al., 2014), poniendo de manifiesto el papel de los bancos de germoplasma en la seguridad alimentaria mundial.

Es de vital importancia que la variabilidad genética necesaria para adaptar la agricultura a futuros cambios, conservada actualmente en los bancos de germoplasma, no se pierda por negligencia del presente. Aunque en muchos aspectos el cambio climático no tiene por qué suponer un cambio drástico en el uso de los bancos de germoplasma, la aceleración de este cambio supondrá una urgencia mayor en la utilización de los materiales conservados, lo cual generará nuevos retos para poder atender una demanda presumiblemente creciente. Será necesario ampliar las colecciones con materiales de los principales cultivos aún no recolectados, pero también con cultivos minoritarios e infrautilizados y especies silvestres emparentadas, materiales estratégicos para proporcionar adaptación a condiciones extremas de cultivo. Será también necesario optimizar la información disponible del germoplasma conservado para facilitar su uso, acelerar los trabajos de caracterización y de evaluación implementando nuevas colaboraciones y facilitar su distribución a corto y largo plazo. Todo ello porque el reto es poder responder con rapidez y con el material más apropiado a peticiones de mejoradores y agricultores que demandan variedades o especies silvestres con potencial adaptación a determinados estreses bióticos o abióticos.

2. Sabiendo qué está conservado, dónde está y cómo está

Antes de intentar dar respuesta a unas cuestiones tan amplias en un espacio tan reducido hay que mencionar que este apartado se va a centrar en la conservación *ex situ* en bancos de germoplasma públicos, sin desarrollar, por falta de información global, ni la conservación *in situ* u *on farm*, la situación en bancos privados, locales o en



los bancos comunitarios de semillas, aun sabiendo que tienen un papel esencial en la seguridad alimentaria en muchos lugares del mundo (Vernooy et al, 2016).

La información más actualizada respecto a colecciones de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura (RFGAA) se sintetiza en el Segundo Informe de la FAO sobre el Estado Mundial de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura, publicado por la Organización de las Naciones Unidas para Alimentación y la Agricultura (FAO, 2010). Según este informe, en el momento de su redacción, se conservaban aproximadamente 7,4 millones de entradas en 1.750 bancos de germoplasma, de las que aproximadamente el 30% son entradas únicas, habiendo por lo tanto un alto porcentaje de duplicación de muestras debido a los intercambios entre bancos.

Considerando el estatus biológico de los materiales conservados, la mayor parte corresponde a variedades tradicionales (De la Rosa y Martín, 2016), también llamadas variedades locales o criollas en castellano o “landraces” en inglés, así como a especies silvestres. La distribución de materiales entre estos dos grupos no es homogénea ya que, mientras que de los cultivos de amplia distribución mundial, como son trigo, arroz, maíz y judías, se conservan miles de muestras, en algunos casos duplicadas en diferentes instituciones, hay un claro déficit en cuanto a la disponibilidad de cultivos minoritarios o infrautilizados y de especies silvestres emparentadas con las cultivadas (Aguirre- Gutierrez et al, 2017), en algunos casos los bancos han centrado sus actividades en el mantenimiento de líneas avanzadas de mejora, y finalmente, se debe mencionar que hay un número importante de materiales de los que no se dispone de información en cuanto a su estatus biológico, lo que sin lugar a dudas es una situación que dificulta enormemente su utilización.

Los gestores de bancos de germoplasma han buscado siempre sistemas de organización de los materiales que faciliten su trabajo. Puesto que el número de taxones conservados es muy grande, la clasificación por grupos taxonómicos como podría ser familias o géneros botánicos generalmente no se ha considerado, siendo sustituida por una agrupación de taxones por grandes grupos de uso, que están integrados por diferentes familias botánicas. Así, es frecuente agrupar cereales, leguminosas grano, hortalizas, forrajeras, plantas aromáticas y medicinales, frutales.... Evidentemente, hay especies que según la fuente consultada se pueden localizar en diferentes grupos. Este sistema de trabajo es el empleado en el mencionado Segundo informe sobre el estado de los recursos fitogenéticos de la FAO, donde se indica que el grupo más representado es el de los cereales (35% de las entradas), seguido de leguminosas grano (17%), plantas



forrajeras (15%) y hortícolas (12%) y en menor cuantía frutales, oleaginosas, especies aromático-medicinales, raíces y tubérculos y otros cultivos. Un análisis más detallado de estos datos permite asegurar que se conservan principalmente muestras o accesiones pertenecientes a las especies más comunes en alimentación animal y humana, y mayoritariamente de aquellas que se reproducen por semillas ortodoxas en cuanto a su conservación, frente a las especies de reproducción vegetativa o de semillas recalcitrantes o intermedias.

Evidentemente, y habiendo pasado casi diez años desde que se iniciaron los trabajos que dieron lugar al informe de la FAO, estos datos han cambiado y se puede asegurar, sin temor a equivocarse, que estos números han aumentado para todos los grupos y especies y que se están haciendo esfuerzos por resolver las carencias detectadas, tratando de fomentar la conservación *in situ* en espacios protegidos de las especies silvestres y la recuperación para utilización directa de variedades tradicionales en sistemas agrícolas sostenibles.

En el ámbito mundial, una parte muy importante de las colecciones se conservan en los once bancos de la red del CGIAR. Cada una de estas colecciones se estableció en centros internacionales expertos en cultivos concretos, en los que la conservación de los materiales básicos para sus programas de mejora es una actividad de trabajo prioritaria. A nivel nacional un número muy importante de países ha desarrollado en mayor o menor medida sistemas de recursos fitogenéticos. Según datos disponibles en la base de datos mundial de Recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura (RFGAA) denominada Genesys, destacan en cuanto a número de muestras conservadas, además de los del CGIAR, los bancos Nottingham en el Reino Unido por su colección de más de 600.000 entradas de *Arabidopsis*, el de la Federación Rusa, por las colecciones de cereales iniciadas por NI Vavilov a principios del siglo XX, el australiano de granos con más de 138.000 entradas de cereales y leguminosas entre otros o los bancos estadounidenses del USDA.

En España, el interés formal por la conservación de los RFGAA se materializó por primera vez en una Orden Ministerial de 1981, que plasmó la importancia que habían adquirido estas actividades en los años 70 del siglo XX, aunque antes ya se habían desarrollado actividades de recolección y conservación de colecciones de vid, cereales de invierno, manzano, maíz y especies silvestres. En la actualidad la red de bancos de germoplasma vegetal del Programa Nacional de RFGAA está formada por más de 30 bancos, dependientes de diferentes entes públicos y que han sido financiados por el INIA a través de los proyectos de acciones complementarias de conservación o de

investigación; un segundo rasgo común a estas colecciones es que su información de pasaporte está incluida en el Inventario Nacional, que se puede consultar a través de la dirección <http://wwwx.inia.es/inventarionacional/>. Estas instituciones conservan mayoritariamente colecciones de semillas, principalmente especies hortícolas, cereales, leguminosas, especies forrajeras y silvestres y en menor cuantía, pero con una gran importancia para el sector agrícola del país, especies de multiplicación vegetativa como vid, olivo y diversas especies frutales.

A pesar de las críticas recibidas, hay un consenso amplio en que el sistema de conservación en bancos de germoplasma *ex situ* es el más eficaz y rentable a gran escala, aunque ya desde los años 90 los organismos internacionales avisaron sobre los problemas a los que se enfrentaba este sistema, incluyendo a) las deficiencias en el mantenimiento de estructuras de conservación a largo plazo, b) la falta de duplicados de seguridad y c) los problemas asociados a la regeneración de la gran cantidad de muestras. Más de 20 años después los problemas siguen siendo los mismos. Fu (2017) indica que persisten los problemas de financiación, instalaciones y personal para conservar todas las colecciones de los bancos y que, además, se han incrementado de manera notable en los últimos años. Entre las posibles soluciones para solventar estos problemas se puede citar el convenio entre bancos del CGIAR y otras organizaciones internacionales con interés en la conservación de germoplasma, como la Secretaria de la Comunidad del Pacífico (SCP) y el Global Crop Diversity Trust, por el que esta organización se compromete a financiar de forma estable las colecciones de los 17 cultivos más importantes para la alimentación mundial que se detallan en la Tabla 1. En este punto también es obligatorio mencionar el esfuerzo que se está realizando por conservar duplicados de seguridad en las instalaciones de la Bóveda Global de Semillas de Svalbard, en Noruega, que en la actualidad mantiene casi 900.000 entradas procedentes de prácticamente todos los países del mundo.

Tabla 1. Colecciones financiadas a perpetuidad por el Global Crop Diversity Trust
(fuente: Global Crop Diversity Trust: <https://www.croptrust.org/our-work/supporting-crop-conservation/global-genebank-partnership/>)

Cultivo	Institución	País
Almorta	ICARDA	Siria
Aroideas comestibles	SPC	Fiji
Arroz	IRRI	Filipinas
Banana y Plátano	Bioversity International	Bélgica
Batata	CIP	Perú
Casava	CIAT	Colombia

Cultivo	Institución	País
Casava	IITA	Nigeria
Cebada	ICARDA	Siria
Forrajes	ILRI	Etiopia
Forrajes	ICARDA	Siria
Garbanzo	ICRISAT	India
Haba	ICARDA	Siria
Judía	CIAT	Colombia
Lenteja	ICARDA	Siria
Maíz	CIMMYT	México
Mijo perla	ICRISAT	India
Ñame	SPC	Fiji
Ñame	IITA	Nigeria
Sorgo	ICRISAT	India
Trigo	CIMMYT	México

3. Asegurando el mantenimiento de los recursos fitogenéticos: racionalizando colecciones y estableciendo duplicados de seguridad

Como se ha visto en el punto anterior, el gran esfuerzo y recursos dedicados a la recolección de germoplasma han dado fruto y en el momento actual existe una ingente cantidad de materiales conservados. Sin embargo, además de otras actividades, como la regeneración, caracterización y evaluación, que sin duda facilitan y promueven su uso, hay un aspecto fundamental que debemos considerar: asegurar la conservación a largo plazo del germoplasma existente en la actualidad. En este sentido, es esencial la existencia de sistemas nacionales que garanticen la protección de las colecciones frente a desastres provocados por el cambio climático o cualquier otro imprevisto. Lamentablemente, las políticas nacionales a este respecto no están exentas de sufrir variaciones en cuanto a las prioridades. Desastres de diversa índole provocados por el cambio climático pueden repercutir en cambios en los presupuestos y ello redundar en desviar las prioridades hacia otros aspectos distintos de la conservación de germoplasma. La visión a largo plazo debería primar en estas circunstancias, no dejando sin recursos suficientes a lo que sin duda es la solución a problemas de un futuro ya a corto plazo. Esta falta de financiación ocasiona, en la mayoría de los casos, una es-



casez de mano de obra especializada que se suele paliar con contratos temporales o participación de personal en formación, lo que repercute negativamente, tanto en la eficiencia en el trabajo, como en la correcta aplicación de las normas básicas de manejo del material vegetal.

El cambio climático supondrá, muy probablemente, el aumento de situaciones imprevisibles que pueden provocar desastres naturales con mayor frecuencia, los cuales pueden afectar también al germoplasma conservado en los bancos. Ejemplos de esta situación son las inundaciones sufridas por el banco nacional de Filipinas en 2011, donde una parte de las 20.000 entradas de arroz se perdieron irremediablemente (Snook et al., 2011). Las tormentas tropicales, de creciente frecuencia y virulencia, son una importante preocupación a lo largo del Pacífico, especialmente para bancos que conservan plantas de multiplicación vegetativa, como es el caso del Centro para Cultivos y Árboles del Pacífico (Center for Pacific Crops and Trees, CePaCT), en Suva, Fiji. Las colecciones de coco están también expuestas a amenazas ocasionadas por patógenos y degradación ambiental, muchas veces ocasionados por el cambio climático. Una estrategia en estudio es la descentralización de la colección, repartiendo el germoplasma en pequeñas “islas” con una o dos variedades. Esta técnica de aislamiento geográfico, también llamada “polymotu” (poly: muchos, motu: isla) reduce la expansión de los patógenos, aísla reproductivamente las variedades y minimiza el riesgo de perder la colección (Bourdeix et al., 2011). Otros ejemplos del peligro al que están expuestas las colecciones de germoplasma debido a los desastres naturales han sido el huracán Mitch de 1998, que dañó de forma severa la colección de germoplasma de banano en América Central y las inundaciones causadas por el fenómeno de “El Niño” en Ecuador (FAO, 2015a). Frente a estos desastres que afectan a las colecciones mantenidas en el campo se plantea el establecimiento de colecciones *in vitro* como duplicados de seguridad.

Uno de los retos a los que se enfrentan los bancos de germoplasma para asegurar los materiales conservados es redoblar los esfuerzos en establecer duplicados de seguridad de las colecciones. Como se ha comentado anteriormente, sólo el 30% de las entradas conservadas en los bancos son muestras originales (FAO, 2010). Lejos de resolver el problema de perder el germoplasma conservado, esta enorme cantidad de duplicados, que no están correctamente identificados en cada banco, lleva a una redundancia en los trabajos de mantenimiento de las mismas entradas en diversas instituciones. Es urgente, pues, la supervisión de las colecciones existentes y su racionalización para alcanzar el objetivo del establecimiento de los duplicados de seguridad

de forma organizada. Ésta ha sido una de las prioridades del Programa Cooperativo Europeo de Recursos Fitogenéticos (ECPGR). Todos los grupos de trabajo han contribuido activamente en el establecimiento de cajas negras conservadas en bancos de germoplasma del mismo o de diferentes países, que ayuden a paliar la pérdida de germoplasma debido a los previsible desastres naturales que puedan surgir como consecuencia del cambio climático. El Grupo de Documentación e Información del ECPGR ha desarrollado la herramienta informática PGR Duplicate Finder (<http://ecpgr.cgn.wur.nl/aegis/AEGISDF/>), basada en los datos de pasaporte, que facilita la identificación de duplicados entre bancos. Estas actividades de racionalización son un primer paso imprescindible para preparar los bancos de germoplasma frente al reto de una mayor utilización de los mismos. Nuestro país lleva años trabajando a este respecto y una gran parte de los recursos fitogenéticos conservados en los distintos bancos dispone de una copia de seguridad en el Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos, a la vez que se avanza en la identificación de duplicados entre distintos bancos establecidos por intercambio de materiales a lo largo del tiempo.

4. Mejorando la documentación

El interés en la conservación de los RFGAA tiene una doble vertiente, en primer lugar la conservación *per se*, para conocer la diversidad del mundo que nos rodea y para preservarla, en la medida de lo posible, de la erosión genética, y en segundo lugar para su utilización como una herramienta imprescindible para dar respuesta a la demanda creciente de producción de alimentos, más acuciante si cabe, en los nuevos escenarios de cambio climático. Uno de los puntos clave que favorece la utilización de RFGAA es dar a conocer estos recursos de la forma más amplia posible, estableciendo y manteniendo sistemas de documentación amplios. La documentación de las colecciones de germoplasma incluye varios grupos de datos: datos de pasaporte, caracterización y evaluación y de gestión de las colecciones. Los dos primeros grupos facilitan la selección y utilización de muestras por parte de los usuarios mientras que los últimos se manejan a nivel interno en los bancos.

El establecimiento de los sistemas de documentación debe empezar en cada institución que conserva una colección, donde los materiales deben estar identificados, al menos, con datos de pasaporte. Con el fin de poder comparar materiales conservados en distintas instituciones es recomendable que se utilicen variables identificadoras comunes, recomendándose en el ámbito internacional el uso, al menos parcial, de



los descriptores incluidos en los datos de pasaporte multicultivo (MCPD) publicados por FAO/Bioversity International (Alercia et al, 2015). En el caso de la mayoría de los países europeos, las bases de datos de las diferentes instituciones se unifican y publican conjuntamente en forma de inventarios nacionales, que a través de las personas focales nacionales se incluyen en la base de datos europea EURISCO, gestionada por el ECPGR desde la sede del IPK en Gatersleben en Alemania, accesible a través del enlace <https://eurisco.ipk-gatersleben.de>, que en enero de 2018 incluía información de casi dos millones de entradas conservadas en 43 países pertenecientes a casi 43.000 especies de 6.000 géneros botánicos. Además, EURISCO pretende ser una plataforma que informe y guíe a sus participantes a cumplir con las obligaciones y los compromisos internacionales contraídos por sus países (Weise et al, 2017). Históricamente, en el ECPGR se han mantenido bases de datos por cultivos, en las que además de la información de pasaporte, cada responsable de la red tenía el cometido de ampliar la información con datos de caracterización y evaluación; después de unos años de funcionamiento el sistema no ha sido todo lo eficaz que se esperaba, por eso en estos momentos se barajan dos opciones a) el diseño de portales con información por cultivos y b) la incorporación de datos caracterización y evaluación en EURISCO.

En un intento de crear un sistema de documentación que dé cobertura mundial a las colecciones de los 17 cultivos más importantes para facilitar su uso, en 2011 se estableció la base de datos *on line* denominada Genesys (<https://www.genesys-pgr.org/es/welcome>) que, en enero de 2018, incluía datos de pasaporte de más de 3,5 millones de entradas conservadas en 435 instituciones, entre las que se encuentran los bancos europeos que aportan su información a través de EURISCO, los bancos del CGIAR, el sistema de recursos genéticos de Estados Unidos (USDA, ARS, NPGS) y los datos de SINGER (System-wide Information Network for Genetic Resources), que en ese momento era la red de información de los bancos del CGIAR. El sistema permite hacer búsquedas por datos de pasaporte, de caracterización y variables ambientales.

A nivel internacional hay otras iniciativas que pretenden reunificar información y hacerla accesible de forma fácil y amigable, entre las que se pueden citar la Plataforma GRIN Global, promovida por el Global Crop Diversity Trust, Bioversity International y el Servicio de Investigación Agraria de Estados Unidos, cuya primera versión se lanzó en 2011 y que se ha puesto a disposición de todos los bancos del mundo. Esta plataforma está diseñada para incluir datos de pasaporte, de gestión, de caracterización fenotípica y genotípica y sobre el estado sanitario de la muestra y los requerimientos para su intercambio. Con unos objetivos semejantes, pero tratando

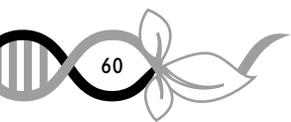
de simplificar el funcionamiento del sistema, se está desarrollando y poniendo a disposición de los usuarios el sistema de bases de datos de germoplasma del CATIE, en Costa Rica (<https://banco de germoplasma.catie.ac.cr/sbdg/?view=bancos>) que está siendo evaluado por diferentes países del entorno. Otro ejemplo reciente es el desarrollo del sistema de documentación del Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG) de México, que incorpora información de recursos fitogenéticos de distintos subsistemas (agrícola, forestal, acuático, pecuario y microbiano) mantenidos como diferentes tipos de muestras como son hojas, semillas o ADN (Yamasaki et al, 2016). Entre los casos de sistemas ya establecidos que incorporan diferentes tipos de datos, se podrían citar casos de éxito que ya son funcionales como el sistema del CGN (banco de germoplasma de la Universidad de Wageningen) que se puede consultar en <https://cgngenis.wur.nl/> o el del USDA de Estados Unidos (<https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/search.aspx>).

Los ejemplos mencionados ilustran el interés mundial por hacer accesible la información de las colecciones de germoplasma, que ha llevado al desarrollo de diferentes iniciativas, a la vez que ponen de manifiesto la complicación que ha tenido hasta el momento la incorporación de datos de distinta naturaleza en el mismo sistema de documentación. A pesar de la ingente labor de captación de información y construcción de bases de datos, la utilidad de las mismas para una búsqueda inmediata de información acerca de variedades adaptadas al cambio climático aún no es posible. Hace falta, no sólo completar la información de pasaporte de las entradas aún no incluidas en las bases, es necesario mejorar la información disponible de las que ya lo están. Entre las vías que se estudian, y que pueden paliar la falta de datos, se encuentra la utilización de datos ecogeográficos asociados a los lugares de origen de las muestras de germoplasma, disponibles en diferentes sistemas de información geográfica, y que pueden ser incorporados como datos de caracterización indicativos de adaptación a determinadas condiciones ambientales, siempre y cuando se disponga de coordenadas de alta calidad del lugar de origen de la entrada. Partiendo del principio de que las plantas se adaptan al entorno en el que se han desarrollado a lo largo del tiempo, las particularidades del entorno pueden informar sobre las características de estas plantas y la información de estas variables ecogeográficas puede ser empleada como elemento informativo de alto valor a la hora de manejar colecciones de germoplasma para actividades tales como el establecimiento de colecciones nucleares basadas en características de adaptación (Parra-Quijano et al, 2011). Valiosas colecciones históricas carentes de una buena información de pasaporte pueden verse beneficiadas de estas posibilidades, facilitando así su utilización.



Además, la información histórica y cultural que aportan los agricultores, botánicos, horticultores o campesinos durante las expediciones de recolección, así como el conocimiento de la población local con respecto al origen de una accesión o su resistencia a plagas y enfermedades, resulta de interés para la utilización del germoplasma conservado en los bancos. Estos conocimientos son el resultado de siglos de adaptación dinámica al entorno, por lo que concentran un enorme potencial para afrontar un futuro incierto donde la sostenibilidad es el factor clave. Esta información se denomina conocimiento tradicional, que la Ley 42/2007 de 13 de diciembre, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad, define en su artículo 3.4. como *“el conocimiento, las innovaciones y prácticas de las poblaciones locales ligados al patrimonio natural y la biodiversidad, desarrolladas desde la experiencia y adaptadas a la cultura y el medio ambiente local”*. Sin embargo, en general, esta información no está disponible en los bancos de germoplasma. Este vacío de información ha impulsado el desarrollo de estrategias para la investigación y la conservación de los conocimientos tradicionales, que además de su indudable valor histórico-cultural, suponen una enorme valía en el contexto de cambio global, incluido el cambio climático. Así, el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, consciente del valor y de la urgencia que tiene la recopilación de las prácticas tradicionales, ha promovido la puesta en marcha del Inventario Español de Conocimientos Tradicionales relativos a la Biodiversidad (Pardo de Santayana et al., 2014) y del Inventario Español de Conocimientos Tradicionales relativos a la Biodiversidad Agrícola. Por su parte, la Red Andaluza de Semillas ha publicado la *“Guía de conocimiento sobre utilización y manejo tradicional ligadas a las variedades autóctonas”* (Red Andaluza de Semillas *“Cultivando Biodiversidad”*, 2011)

A pesar de los datos expuestos, la documentación de colecciones para facilitar su utilización tiene que mejorar porque, según el Segundo Informe FAO, poco más de la mitad de los recursos conservados en el mundo tiene alguna información asociada. Es preciso buscar soluciones trabajando con metodologías sencillas y amigables que apliquen a los datos los principios FAIR (Findable, Accessible, Interoperable, and Re-usable), para lo que se propone, entre otras medidas, el uso de doi (Digital Object Identifiers) como identificadores permanentes únicos propuestos en el sistema de información GLIS de FAO, que pretende dar respuesta al Artículo 17 del Tratado Internacional de RFGAA que indica *“que las Partes Contratantes deben cooperar en la elaboración y fortalecimiento de un Sistema Mundial de Información de intercambio de datos sobre todos los aspectos relativos a los recursos fitogenéticos”*. El sistema permitirá hacer un seguimiento de los movimientos de cada recurso fitogenético, así como facilitar el acceso a toda la información que se ha generado en los diferentes procedimientos en



los que se emplea, todo ello con el objetivo final de facilitar el reparto de beneficios derivado de su uso.

Con este objetivo, y en nuestro entorno más cercano, se trabaja en iniciativas como el Repositorio de datos del INIA o el desarrollo de herramientas bioinformáticas de gestión de información de colecciones.

5. Incrementando las colecciones

5.1. ESPECIES SILVESTRES EMPARENTADAS CON LOS CULTIVOS

Las especies silvestres son, sin duda, un recurso de gran interés para la mejora de los cultivos por su adaptación en muchos casos a ambientes naturales de condiciones extremas. Además, en sí mismas suponen una fuente de alimentación, en especial en países en vías de desarrollo y son una fuente importante de alimentación para el ganado en países cuya economía está basada en su explotación. Según el Segundo Informe de la FAO sobre Recursos Fitogenéticos (FAO, 2010), se estima entre 50.000 y 60.000 el número de especies pertenecientes a los mismos géneros que las especies cultivadas y de las cuales 700 han sido descritas como de alta prioridad para su conservación por pertenecer a sus “gene pools” primario y secundario. Como prueba del interés en estas especies silvestres basta señalar que supusieron un 27% de las muestras cedidas por los centros del CGIAR en la década de 1996 a 2006 (Lusty et al., 2014). Estas especies son difíciles de conservar y regenerar, por eso en algunos casos no se hace pública su existencia, al no estar disponibles porque se conserva poca cantidad de semilla. Salvada esta circunstancia, el Segundo Informe sobre RFGAA afirma que sólo el 18% de las entradas conservadas en los bancos pertenecen a este tipo de materiales y, aunque está demostrado que los peticionarios se dirigen a los bancos para solicitar estas especies, su escasa representación restringe de forma importante su utilización (FAO, 2010). Adicionalmente, se ha estimado que entre el 16% y el 22% de las especies silvestres pueden estar en peligro de extinción en los próximos 50 años (Jarvis et al., 2008).

El impacto que el cambio climático puede tener sobre ellas no ha sido estudiado en profundidad, pero se puede asumir que distintos factores como el tipo de estrés, el taxa, la capacidad de adaptación a la nueva situación, las posibilidades de migración y dispersión o la capacidad de reproducirse si desaparecen determinados agentes polinizadores, va a afectar la distribución y/o presencia de poblaciones de plantas de estas especies. Ya hay datos que indican que las especies silvestres son



más vulnerables al cambio climático que las cultivadas y, consecuentemente, debe priorizarse su recolección (FAO, 2015a).

El interés en la conservación *in situ* de especies silvestres ha aumentado considerablemente en los últimos años, así como el desarrollo de metodologías para el manejo de las poblaciones conservadas (Iriondo et al., 2008; Hunter y Heywood, 2010; Maxted et al., 2012). También se ha avanzado en la integración de la conservación *in situ* y *ex situ* para asegurar la conservación y facilitar su utilización. Sin embargo, queda mucho camino por recorrer y en los últimos años se están llevando a cabo distintos proyectos que tratan de dar un fuerte impulso a este tema. Así, recientemente en Europa ha habido varios proyectos centrados en la elaboración de listas de parientes silvestres de los cultivos, entre ellos el proyecto PGR-secure “Novel characterization of crop wild relative and landrace resources as a basis for improved crop” coordinado por la Universidad de Birmingham (<http://www.pgrsecure.bham.ac.uk/>). Entre otros objetivos, se trata de establecer una estrategia europea para la conservación de las especies silvestres y variedades tradicionales más prioritarias. En España ha participado en este proyecto la Universidad Rey Juan Carlos, que ha elaborado la lista de especies silvestres emparentadas con las cultivadas en nuestro país (Rubio-Teso et al., 2018). Diversos trabajos, entre ellos algunos desarrollados en España (De la Rosa et al., 2013), indican que estas especies están mal representadas en las colecciones *ex situ*. Con el objetivo de mejorar esta situación, se está llevando a cabo en el proyecto “Adapting Agriculture to Climate Change: Collecting, Protecting and Preparing Crop Wild Relatives” financiado por el Global Crop Diversity Trust, a través de un sub-proyecto centrado en la recolección de 25 especies silvestres emparentadas con los cereales de invierno y las leguminosas grano. Otra iniciativa europea liderada por la universidad de Birmingham es la recientemente iniciada Acción Especial “Farmers Pride”, cuyo objetivo principal es establecer una red de mantenedores de germoplasma, incluyendo conservadores *ex situ*, *in situ*, mejoradores y usuarios de diversos tipos con el objetivo de salvaguardar y potenciar el uso del germoplasma conservado en Europa, integrando a la comunidad de usuarios con el fin de maximizar su sostenibilidad.

El reto de los bancos de germoplasma a este respecto es completar las colecciones con nuevas expediciones de colectas, lo que conlleva un detallado estudio de las áreas de distribución de las especies, y la participación activa junto a diferentes actores en estos proyectos que tratan de establecer redes que coordinen los esfuerzos realizados hasta ahora de forma muchas veces inconexa.

5.2. AUMENTANDO EL RANGO DE ESPECIES PARA LA ALIMENTACIÓN: INCREMENTAR Y POTENCIAR EL USO DE ESPECIES MINORITARIAS E INFRAUTILIZADAS

La especialización en cultivos y sistemas de producción que son altamente eficientes en ciertos rangos de temperatura o aportes hídricos puede no ser efectiva a largo plazo en todas las áreas de producción. Hay una necesidad urgente de investigar formas alternativas de manejo de la agricultura en las cuales las especies infrautilizadas pueden jugar un papel clave. Por especies infrautilizadas (en inglés, Neglected and Underutilized Plants, NUS) se entiende aquellas cuyo potencial para mejorar el sustento de la humanidad no está completamente explotado, debido a su limitada competitividad con especies y variedades empleadas en la agricultura convencional (Padulosi et al. 2011). A pesar de ello, pueden tener una significativa importancia a nivel local, estando altamente adaptadas a condiciones marginales, de ambientes extremos y que pueden por tanto contribuir a la diversificación y resiliencia de los agroecosistemas (Padulosi et al., 2002). Existe, además, una gran cantidad de especies, que en sí representan una amplia oportunidad de encontrar cultivos adaptados a diferentes condiciones y de satisfacer diferentes propósitos y necesidades. Las ventajas que estos cultivos ofrecen incluyen su pre-adaptación a condiciones marginales o extremas de temperatura, humedad, sequía, etc. y su resistencia a plagas y enfermedades. Muchos de estos cultivos poseen una amplia variabilidad intraespecífica que puede ser explotada en mejora (Williams, 2013).

Ejemplos de especies infrautilizadas son *Vigna subterranea*, una nutritiva leguminosa originaria del oeste de África y cultivada en África Subsahariana. Es muy conocida y apreciada por su tolerancia a la sequía y adaptación a crecer en suelos duros y marginales (Andika et al, 2008). Otros cultivos infrautilizados y conocidos por su adaptación a la sequía son las especies de mijos menores, empleados particularmente en el Sur de Asia. Estos mijos, que combinan caracteres de adaptación a la sequía con unas excelentes cualidades nutricionales, constituyen una oportunidad para el desarrollo de áreas frecuentemente afectadas por graves sequías (Padulosi et al., 2009). En España existe una gran diversidad de cultivos infrautilizados descrita con detalle en Hernández (2013). Un ejemplo de éxito en este sentido es la gran extensión y utilización de quinoa, que en pocos años ha pasado de ser una especie localizada sólo en el Altiplano de los Andes a tener una amplísima distribución y uso mundial.

A pesar del creciente interés por este tipo de cultivos, las especies infrautilizadas están muy poco representadas en los bancos de germoplasma (FAO, 2010). Los esfuerzos por fomentar la conservación *in situ* han sido fructíferos en los últimos años, pero la



conservación *ex situ*, que asegura con mayores garantías su conservación y disponibilidad, es casi inexistente (Heywood y Dulloo, 2005). Esto supone una severa barrera para el acceso al germoplasma, su mejora, utilización y promoción. El reto para los bancos de germoplasma es potenciar la recolección de este tipo de cultivos antes de que desaparezcan por el uso generalizado de los cultivos mayoritarios, prácticas de monocultivo y estandarización del mercado. La información y concienciación sobre su utilización son aspectos que también pueden ser asumidos por los bancos de germoplasma.

6. Colaborando en la caracterización y evaluación

Como se ha indicado en el apartado correspondiente a la Documentación, el esfuerzo dedicado a optimizar la información de pasaporte sobre el germoplasma conservado ha sido muy grande y, a pesar de la indudable mejora que debe realizarse, se puede decir que en la actualidad hay bases de datos que facilitan el uso del germoplasma principalmente en lo referente a los datos de pasaporte. La situación es distinta para datos de caracterización. Como se ha indicado, pocos bancos de germoplasma ofrecen información de caracterización *on line*. Los más importantes a este respecto son el World Vegetable Center (AVRDC) (<http://seed.worldveg.org/about>), el National Plant Germplasm System en Estados Unidos (NPGS) (www.ars-grin.gov/npgs), o en Países Bajos, el Center for Genetic Resources (CGN) (<https://www.wur.nl>). En España, también existen datos de caracterización accesibles. Así el CRF tiene disponible *on line* datos de caracterización primaria de las colecciones de cereales de invierno y leguminosas grano; el COMAV y el CITA ofrecen datos de caracterización de parte de la colección; el IMIDRA ha creado una página web con información de las colecciones españolas de vid; el IVIA ha puesto a disposición de los usuarios fichas con los datos de sus colecciones de cítricos y la Universidad de Lleida ha publicado *on line* los datos de caracterización de sus colecciones de manzano y peral. Sin embargo, estos datos son totalmente insuficientes para ofrecer posibilidades reales de utilización del germoplasma conservado, tal y como se ha indicado en los informes publicados sobre el estado de los RFGAA en el mundo (FAO, 1996 y 2010). Desde entonces, a pesar de que se han realizado muchas actividades de caracterización, la información producida está infrutilizada debido, en gran medida, a la falta de normalización y a las restricciones de accesibilidad. En 1996, el Plan de Acción Mundial resaltó la importancia de la caracterización, tanto como una manera de ayudar a vincular la conservación de los RFGAA con su utilización, como para facilitar la identificación de deficiencias en las colecciones y el desarrollo de colecciones de referencia.

Actualmente, este problema continúa siendo un obstáculo sustancial para su uso en la investigación de cultivos, en general, particularmente en la mejora genética. En este sentido, el reto de los bancos de germoplasma para hacer frente al cambio climático es doble, a) hacer accesible a los potenciales usuarios la información ya disponible y b) obtener la máxima información acerca de las características de los materiales conservados. Este reto requiere ir más allá de las actividades que habitualmente realizan los conservadores de germoplasma, y que generalmente se limita a la caracterización primaria. Para hacerlo posible hay que cambiar el enfoque hacia uno más integrado que involucre a múltiples actores especializados en el manejo y la utilización de los recursos genéticos, como son los mejoradores, los agricultores y los investigadores. Este nuevo enfoque puede ayudar a cambiar el panorama respecto a la insuficiente información de caracterización y evaluación, contribuyendo a garantizar el suministro de germoplasma necesario para abordar la mejora frente a estreses bióticos y abióticos (Dwivedi et al., 2017). De otro modo, los bancos se asemejarán a una biblioteca con muchos libros que no han sido todavía abiertos, y mucho menos leídos, como afirman Naylor et al. (2007).

El reto de hacer accesible para los usuarios la información ya disponible no es una tarea trivial, ya que es necesaria una labor de estandarización muy complicada puesto que los ensayos de evaluación se han realizado con diferentes criterios, variables y materiales de referencia. Aunque se está trabajando a este respecto, el progreso se adivina lento.

Por otro lado, la obtención de la máxima información sobre el material pasa por una caracterización y evaluación según variables específicas de interés en programas de mejora orientados al desarrollo de materiales adaptados al cambio climático. Estos caracteres incluyen el rendimiento en ambientes concretos, la resistencia a plagas y enfermedades, la tolerancia a estreses abióticos (sequía, temperaturas extremas, salinidad), procesos relacionados con la floración, el cuajado del grano o de los frutos, eficiencia fotosintética y en el uso del agua, etc. El grado de implicación de los bancos de germoplasma en esta evaluación es una cuestión controvertida, no habiendo acuerdo sobre en qué medida los bancos deben implicarse. Lusty et al. (2014) proponen que no sería necesaria la intervención de los bancos en los cultivos más importantes como por ejemplo el arroz o el trigo, en los que hay programas de mejora bien desarrollados y una ingente cantidad de información generada. Sin embargo, para otros cultivos de menor importancia y con menos recursos, los bancos de germoplasma pueden ser el lugar óptimo, y en algunos casos el único, para realizar estas actividades. No hay que olvidar, sin embargo, que la evaluación requiere un elevado



aporte financiero, además de competencia técnica, instalaciones especiales y un conocimiento detallado de las necesidades de los usuarios. En consecuencia, son pocos los bancos de germoplasma que pueden llevar a cabo programas importantes de evaluación bajo su propia dirección y empleando los fondos para las actividades de manejo básico del banco. Con objeto de aportar soluciones a la falta de instalaciones se están desarrollando plataformas de fenotipado y de simulación de condiciones ambientales futuras entre las que se pueden citar la Center for Plant Science de la University College of Dublin o Pheno3C del INRA.

Existen, además, varias opciones viables de manejo de la evaluación cuya eficacia ha sido demostrada, especialmente cuando cuentan con la participación colaborativa de otros bancos de germoplasma (Engels y Visser, 2007), que puede realizarse a muchos niveles, por ejemplo, germoplasma conservado en un banco puede trasladarse a otro con instalaciones más adecuadas para ser evaluado para ciertas características. Esto es especialmente ventajoso en el caso de cribado de germoplasma para la resistencia o tolerancia a patógenos que no están presentes en el país donde se ubica el banco que conserva el germoplasma. También posibilita la realización de evaluaciones en diferentes ambientes, permitiendo el estudio de interacciones genotipo-ambiente y de adaptación a condiciones específicas, tan importante para el desarrollo de materiales adaptados al cambio climático. En el momento actual existe una gran cantidad de convenios a distintos niveles, bilaterales entre bancos (Ej.: convenio entre el banco de germoplasma del COMAV de la Universitat Politècnica de València y el Centro de Recursos Genéticos de Holanda para regeneración y caracterización de germoplasma de pimiento), entre países (como el existente entre Holanda y Alemania para el mantenimiento de las colecciones de remolacha azucarera, patata y achicoria), subregionales (colaboración entre las colecciones de los países nórdicos Dinamarca, Finlandia, Islandia, Noruega y Suecia) y regionales como el ECPGR que ha supuesto el marco legal para el establecimiento de múltiples colaboraciones nacionales e internacionales (Engels y Visser, 2007).

Además de la colaboración entre bancos de germoplasma, la participación de agricultores puede ser muy valiosa. Por ejemplo, Etiopía dispone de un avanzado programa de conservación y evaluación *on farm* que se apoya en la cooperación entre agricultores e investigadores para reintroducir variedades locales que se perdieron durante la sequía de los años 80 del pasado siglo. El banco suministra variedades locales de los cultivos más importantes (teff, cebada, garbanzo, sorgo y judías) a agricultores, quienes las cultivan aportando datos sobre su capacidad de adaptación a los diferentes ambientes. El programa está diseñado con una aproximación descentralizada. En Fi-



lipinas están en marcha colaboraciones similares entre distintas instituciones para el cultivo de arroz (FAO, 2015).

En conclusión, los retos de los bancos de germoplasma para hacer frente al cambio climático, respecto a la caracterización y evaluación del material que conservan, son, por un lado, organizar y difundir la información de la que ya disponen, para que los usuarios puedan hacer un uso más racional y eficiente del germoplasma; y por otro lado, implementar actividades, con un enfoque multidisciplinar, para la caracterización y evaluación del germoplasma, que debe de ir más allá de la caracterización primaria. Ambas tareas requieren mucho trabajo y no es previsible ver sus frutos de una forma apreciable en un futuro inmediato.

7. Integrando los datos de secuenciación para facilitar el manejo de las colecciones de germoplasma

Las nuevas tecnologías de secuenciación han propiciado una extraordinaria reducción de los costes de genotipado, lo que ha dado lugar a una revolución que afecta a todas las áreas relacionadas con la genética y en la que se incluyen los bancos de germoplasma. Esta capacidad de genotipado puede ser utilizada con distintos fines en los bancos, por ejemplo, para determinar la estructura de la variación en las colecciones. Por otro lado, estas tecnologías están facilitando el estudio de los procesos que han creado la variación actual de una forma precisa y este conocimiento puede ser utilizado para racionalizar las colecciones.

Una aplicación inmediata es la localización de duplicados mediante métodos moleculares. Estudiando los datos de pasaporte y caracterización se pueden encontrar numerosos duplicados, pero un genotipado barato de alta densidad puede ser incluso más eficiente. Los datos de pasaporte pueden presentar grandes lagunas y pueden contener errores debidos al manejo de los materiales y a la transferencia de información entre distintas colecciones. Los datos de caracterización pueden presentar, a su vez, importantes ambigüedades, dado que una mera similitud morfológica no es una garantía de una similitud genética. Por ello, el genotipado es hoy en día una interesante alternativa, además de ser más barato que la caracterización morfológica y más fácilmente estandarizable.

Por otro lado, la determinación de la estructura poblacional de las especies silvestres y la caracterización de la diversidad de las mismas, pueden ser utilizadas para tomar decisiones respecto a qué poblaciones merece la pena representar más o menos abundantemente en las colecciones. Existen especies con una muy baja diversi-



dad molecular y morfológica que pueden ser representadas por unas pocas entradas, mientras que de otras más diversas deberían guardarse muchos más materiales. Una estrategia muy similar puede ser aplicada a las variedades tradicionales, aunque en este caso la variabilidad morfológica y funcional puede ser mucho más relevante y un mero análisis molecular podría subestimar esta valiosa diversidad. En estas variedades puede haberse seleccionado por parte de los agricultores una variabilidad morfológica o funcional muy relevante que puede ser debida a muy pocos loci que podrían pasar desapercibidos en un análisis molecular.

Finalmente, si consideramos a un genotipo como un haplotipo particular de los *loci* que componen su genoma, podemos diseñar nuevas estrategias de conservación y racionalización de las colecciones. La búsqueda de todos los alelos presentes en un gen concreto suele denominarse *ecotilling* y la aproximación basada en bloques haplotípicos trataría de hacer lo mismo, pero intentando conservar todos los alelos existentes de todos los bloques haplotípicos. Una vez tenemos una buena representación de la variabilidad molecular de una especie, se puede determinar la magnitud del desequilibrio de ligamiento así como los bloques haplotípicos (bloques que presentan un muy alto desequilibrio de ligamiento), que constituyen el acervo genético. Estos bloques son conjuntos de *loci* cercanos que no han sufrido prácticamente recombinaciones en la población durante un largo tiempo. Esta es una estrategia análoga a la utilizada por el proyecto Hapmap, el predecesor del proyecto de los 1000 genomas humanos. Una vez determinados estos bloques, se puede determinar cuáles son los alelos de cada uno de ellos presentes en la especie y podríamos diseñar una colección de germoplasma en la que todos los haplotipos de cada bloque/*loci* estuviesen representados.

El ligamiento puede ser utilizado también para determinar de un modo muy sencillo las introgresiones que están siendo utilizadas comercialmente en una especie concreta. Esto nos permite averiguar la historia de estas variedades mejoradas, incluyendo qué materiales fueron utilizados para crearlas.

Obviamente, el genotipado de las colecciones permite el acceso a los materiales mediante selección alélica o haplotípica, pero además podría posibilitar la realización de estudios de asociación. Para llevarlos a cabo se requiere un genotipado de muy alta densidad, siendo lo ideal una secuenciación completa del genoma, y un fenotipado de los caracteres de interés. Este último punto puede ser una de las limitaciones principales del uso directo de los datos de caracterización, dado que en muchas ocasiones han sido recogidos en distintos experimentos de caracterización que difícilmente serán comparables para caracteres con una alta influencia ambiental.



En cualquier caso, los bancos de germoplasma deberían jugar un papel relevante en esta nueva era genómica dado que, además de albergar las colecciones de materiales biológicos, podrían encargarse de organizar y poner a disposición de la comunidad los datos ya mencionados de pasaporte, caracterización y evaluación, que se deberían completar con los de genotipado de un modo integrado. Sin un repositorio que integre esta información, la investigación y el uso de la misma, tanto en investigación como en mejora se dificulta enormemente, puesto que cualquier proyecto requiere un gran esfuerzo previo de búsqueda de información en distintos artículos y bases de datos, así como una difícil tarea de integración, que se ve dificultada por el uso de numerosos códigos incompatibles. Esto podría constituir una muy valiosa aportación, dado que estos datos, en la mayor parte de las ocasiones, están dispersos y su integración resulta muy costosa. Los bancos son un candidato ideal para realizar esta tarea dado que son ellos la fuente última de la mayor parte de los materiales vegetales utilizados en investigación y cualquier dato de caracterización o genotipado que integren estaría ligada a los materiales biológicos que posibilitan, en última instancia, tanto las investigaciones como los desarrollos industriales.

8. Facilitando el acceso a los recursos fitogenéticos

La humanidad depende de la disponibilidad continua de un amplio conjunto de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura, que le permita mantener la seguridad alimentaria y económica. Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de recursos que existen, nos enfrentamos a obstáculos importantes para su movilización y uso sostenible (Kell et al., 2017).

Hay que considerar que el cambio climático es un proceso en curso, por lo que los recursos genéticos tendrán que conservarse y movilizarse continuamente para hacer frente a los nuevos retos conforme cambien las condiciones en las próximas décadas (FAO, 2015b). Esto provoca una mayor interdependencia entre países y regiones, de forma que la producción a nivel mundial recae en los recursos fitogenéticos procedentes de todo el mundo, lo que implica que su movimiento resulte esencial. El Segundo Plan de acción mundial para RFGAA, aprobado por el Consejo de la FAO en noviembre de 2011, reconoce este mayor grado de interdependencia de los países como consecuencia de las nuevas condiciones ambientales y propone, entre los elementos para hacer frente al cambio climático, dar más apoyo a su acceso y movilización (FAO, 2011).

Las nuevas condiciones climáticas pueden provocar que los cultivares locales y variedades comerciales pierdan su adaptación a las condiciones ambientales de los lugares



donde tradicionalmente se han cultivado, por lo que se necesitarán cultivos de otras regiones que presenten mejor adaptación al nuevo entorno. Por ejemplo, las expectativas climáticas para África indican que para 2050 muchos países de este continente experimentarán nuevos entornos climáticos que actualmente no existen. De estos países se estima que el 75% presentarán climas análogos con el clima actual de al menos otros cinco países, lo que sugiere que el movimiento internacional del germoplasma será fundamental para la adaptación de la agricultura a estos nuevos climas (Burke et al., 2009).

Los bancos de germoplasma, además de conservar los recursos genéticos, tienen como objetivo promover su utilización, que se materializa en la actividad de suministro a los usuarios de material y la información asociada. Esta transferencia se realiza según las limitaciones normativas o acuerdos vigentes en cada país, lo que provoca que en muchos países el acceso a los recursos genéticos esté limitado por un entorno político demasiado complejo.

El Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB), establecido en la Conferencia de Naciones Unidas celebrada en Río de Janeiro en 1992 y ratificado inicialmente por 168 países, supuso un importante avance en la regulación del intercambio de recursos genéticos. En él se reconoce la soberanía de los países sobre su germoplasma original, si bien este Convenio no es aplicable a las colecciones *ex situ* establecidas con anterioridad a su entrada en vigor. Esto significa que los recursos genéticos pasan de ser “patrimonio de la humanidad de libre acceso” a estar sujetos a la jurisdicción de los países donde se encuentran (Art. 15). Actualmente lo han ratificado 196 países y es el único instrumento internacional que se ocupa de la biodiversidad en su conjunto. El CDB establece un acceso a los recursos de forma bilateral, con las dificultades que supone, para cada caso, tener que negociar términos específicos de acceso a los recursos genéticos y el reparto de beneficios (ABS, Access to genetic resources and Benefit Sharing).

Sin embargo, dadas las características especiales y diferenciadas de los RFGAA, y la gran interdependencia de los países respecto a su uso (Flores-Palacios et al., 1997; Khoury et al., 2015), la aplicación del CDB generaba una situación de incertidumbre respecto a la seguridad alimentaria. Para solucionar estos problemas la FAO abrió un proceso negociador que culminó en 2001 con la firma en Roma del Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura, en adelante el Tratado. España, junto a la mayoría de países de la UE, lo ratificó en 2004, año en el que entró en vigor. El Tratado establece un Sistema Multilateral de Acceso, frente al sistema bilateral del CDB, mediante el cual los países firman-



tes acuerdan poner sus recursos genéticos para usos agrícolas a disposición de los otros países firmantes y aceptan, a la vez, hacer un reparto común de los beneficios derivados de unos determinados usos del material genético (investigación, mejora y capacitación). Las colecciones *ex situ* bajo el control y la administración de los países firmantes están obligadas a incluir en el Sistema Multilateral del Tratado el material del Anexo 1, en el que se listan los 64 cultivos para los que aplica el Tratado, siempre que no esté sujeto a derechos de propiedad intelectual. Una característica de este tratado es que las transferencias de cualquier material incluido en el mismo se deben realizar bajo los mismos términos y condiciones, utilizando un único Acuerdo Normalizado de Transferencia de Material (ANTM).

A pesar de la existencia de legislación internacional, en una encuesta a nivel mundial realizada por la Secretaría del Tratado se constata, entre otros “cuellos de botella” del uso de los RFGAA, la necesidad crítica de abordar el acceso al material vegetal e información asociada (Kell et al., 2017).

Entre las limitaciones del Tratado se podría destacar el número de países y de cultivos en los que se aplica. Actualmente, el tratado incluye 143 países firmantes más la Unión Europea: todos los países de la Unión Europea, Estados Unidos, muchos países latinoamericanos, y la gran mayoría de los países de África, Asia y Oceanía. Importantes ausencias son China, Rusia, México y Sudáfrica. El Sistema Multilateral da cobertura a 35 de los aproximadamente 150 cultivos alimentarios que se comercializan en el mercado a nivel mundial. Considerando que además existen otros cultivos que se comercializan exclusivamente a nivel local y que, a medida que avance el cambio climático, es probable que sea necesario intercambiar una mayor variedad de especies entre países y regiones, resulta necesario poder garantizar que estos recursos también tengan un acceso justo y equitativo para quienes lo necesitan (Jarvis et al., 2015).

Estos aspectos se trataron en la Séptima reunión del Órgano Rector del Tratado, celebrada en octubre de 2017 en Kigali (Rwanda), donde se puso de manifiesto además, la necesidad de mejorar el funcionamiento del Sistema Multilateral, revisar el ANTM, ampliar la cobertura del Sistema Multilateral, aumentando el número de especies que se incluyen en el Anexo I, y preparar una evaluación adecuada sobre el funcionamiento del sistema y los mecanismos de su puesta en marcha.

A nivel nacional, en cuanto a la aplicación del Tratado, es importante destacar que todas las colecciones públicas españolas con material que cumpla los requisitos del Sistema Multilateral están obligadas a facilitarlo mediante el ANTM, cuando el solicitante se encuentre bajo la jurisdicción de un país firmante del Tratado.



La Ley 30/2006 “de semillas y plantas de vivero y de recursos fitogenéticos”, trata por primera vez el acceso a los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación, pero no establece un sistema de acceso, únicamente indica algunas pautas para el desarrollo reglamentario. El Real Decreto que desarrollará el capítulo de acceso del Título IV de la citada Ley está actualmente en proceso de desarrollo (MAPAMA, 2017). Este desarrollo reglamentario tendrá como ámbito de aplicación todos los recursos fitogenéticos bajo la administración y el dominio público en España, que no estén bajo la jurisdicción del Tratado, independientemente de la administración que sea (estatal, autonómica o local). Además, establecerá el procedimiento para el acceso a los RFGAA españoles cuando su utilización sea con fines de investigación comercial, y establecerá medidas simplificadas cuando el acceso sea exclusivamente con fines de investigación no comercial. El acceso a los recursos fitogenéticos *in situ*, se regula por el Real Decreto 124/2017 en el que se indica que la autoridad competente es el órgano que designe la Comunidad Autónoma en cuyo territorio se encuentre el recurso. Respecto a los recursos fitogenéticos *ex situ* (bancos de germoplasma), el órgano gestor de la institución de conservación *ex situ* de carácter o titularidad pública, es quién actúa como autoridad competente. Finalmente, cabe destacar que en la Ley se aborda, en su Artículo 48, el Programa Nacional de Conservación y Utilización Sostenible de los RFGAA, que se ha desarrollado mediante el Real Decreto 199/2017, que trata fundamentalmente sobre la conservación de los RFGAA, y tiene entre sus objetivos establecer la adecuada estructura de la Red de Bancos de Recursos Fitogenéticos que encauce la necesaria cooperación nacional e internacional en el tema.

Otro paso adelante en la regulación del acceso a los recursos genéticos y reparto justo y equitativo de los beneficios que se deriven de su utilización fue la entrada en vigor el 12 de octubre de 2014 del Protocolo de Nagoya (PN). El PN regula, para los países firmantes del mismo, el acceso a los recursos fitogenéticos no incluidos en el Anexo I del Tratado, o para países no firmantes del Tratado o para otros usos distintos de la agricultura y la alimentación. El Reglamento UE 511/2014, relativo a las medidas de cumplimiento de los usuarios del PN sobre el acceso a los recursos genéticos y participación justa y equitativa en los beneficios que se deriven de su utilización en la Unión, establece como principal obligación de los usuarios de recursos genéticos y/o conocimientos tradicionales asociados a los recursos genéticos la de actuar con Diligencia Debida, que es la obligación de los usuarios para que busquen, conserven y transfieran a los usuarios posteriores la documentación de acceso, que en la mayor parte de los casos, tras la entrada en vigor del PN, es el certificado inter-



nacional de cumplimiento. También permite acceder a los recursos fitogenéticos que no se encuentran incluidos en el Anexo I del Tratado utilizando el ANTM, entendiéndose que se cumple la Diligencia Debida.

España, a través del artículo 71 de la Ley 42/2007 de Patrimonio Natural y de la Biodiversidad, tras su modificación por la Ley 33/2015 (entrada en vigor el 7 de octubre de 2015), pasa a regular el acceso a los recursos genéticos españoles, requiriendo la obtención de la preceptiva autorización de acceso. La Ley establece las autoridades competentes de acceso y las oportunas infracciones y sanciones. Igualmente a través de los artículos 72, 74, 80 y 81 de la Ley 42/2007, se establecen las infracciones y sanciones relativas al incumplimiento de las obligaciones y procedimientos previstos en el Reglamento 511/2014 en relación con las medidas de cumplimiento del Protocolo de Nagoya. Todos estos procedimientos se han concretado a través del Real Decreto 124/2017, de 24 de febrero, relativo al acceso a los recursos genéticos procedentes de taxones silvestres y al control de la utilización. En este Real Decreto se introduce, en la legislación española, las obligaciones derivadas de los reglamentos europeos en materia de utilización de recursos genéticos y conocimientos tradicionales asociados, y regula el acceso a los recursos genéticos españoles. Esta legislación deriva del Convenio sobre Diversidad Biológica, que recoge entre sus objetivos la participación justa y equitativa en los beneficios derivados de la utilización de recursos genéticos (tercer objetivo), y del Protocolo de Nagoya, que desarrolla una serie de principios y obligaciones para el efectivo cumplimiento de dicho objetivo.

En definitiva, resulta evidente que la necesidad de adaptación de los cultivos para hacer frente al cambio climático está creando un mayor grado de interdependencia de los recursos fitogenéticos entre los diferentes países y regiones que requiere agilizar el proceso de movilización de estos recursos. Los bancos de germoplasma, que tienen entre sus responsabilidades suministrar el material, deben en consecuencia conocer y aplicar las normativas y acuerdos vigentes que correspondan, con el fin de facilitar la movilización y uso sostenible de los recursos fitogenéticos que conservan.

9. Agradecimientos

Este trabajo de revisión ha sido financiado en parte por los proyectos RFP2015-00016, RFP2015-0012, RFP2015-0008-C4-1 y RFP2016-0008-C4-1.



10. Bibliografía

- Aguirre-Gutiérrez J, Treuren R van, Hoekstra R, Hintum, TJJ van. 2017. Crop wild relatives range shifts and conservation in Europe under climate change. *Diversity and Distributions*, 23: 739-750.
- Alercia A, Diulgheroff S, Mackay M. 2015. *FAO/Bioversity Multi-Crop Passport Descriptors V.2.1 [MCPD V.2.1]*. FAO, Rome, Italy.
- Andika DO, Onyango MOA, Onyango JC. 2008. Role of Bambara groundnut (*Vigna subterranea*) in cropping systems in Western Kenya. In: J Smartt and N Haq (eds) *New Crops and Uses: Their Role in a Rapidly Changing World*. Centre for Underutilized Crops, University of Southampton, Southampton, UK.
- Bhattacharya S. 2016. Syrian seed bank gets new home away from war. *Nature*, 538: 16-17.
- Bourdeix R, Johnson V, Baudouin L, Tuia VS, Kete T, Planes S, Lusty C, Weise S. 2011. Polymotu: A new concept of island based germplasm bank based on an old Polynesian practice. *Ogasawara Research* 37: 33-51.
- Burke MB, Lobell DB, Guarino L. 2009. Shifts in African crop climates by 2050, and the implications for crop improvement and genetic resources conservation. *Global Environ. Change* (2009). doi:10.1016/j.gloenvcha.2009.04.003
- De la Rosa L, Aguiriano E, Mallor C, Rubio-Teso ML, Parra Quijano M, Torres E, Iriondo JM. 2013. Prioritized crop wild relatives in Spain: status on the National Inventory of Plant Genetic Resources for Agriculture and Food. *Crop Wild Relative* 9: 23-26.
- De la Rosa L, Martín I. 2016. Las colecciones de germoplasma de variedades tradicionales. Las variedades locales en la mejora genética de plantas. Ruiz de Galarreta, J.I., Prohens, J., Tierno, R. (eds.). Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz. ISBN: 978-84-457-3395-0, pp 43-59.
- Dwivedi SL, Scheben A, Edwards D, Spillane C, Ortiz R. 2017. Assessing and exploiting functional diversity in germplasm pools to enhance abiotic stress adaptation and yield in cereals and food legumes. *Frontiers in Plant Science*, 8, art. no. 1461.
- Engels JMM, Visser L. (eds.). 2007. Guía para el manejo eficaz de un banco de germoplasma. *Manuales de Bioversity para Bancos de Germoplasma No. 6*. 189 pp. ISBN-13: 978-92-9043-767-3.
- FAO. 1996. Report on the state of the world's plant Genetic Resources for food and agriculture. Commission of Genetic Resources and Agriculture. FAO, Rome, Italy.



- FAO. 2010. The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Commission of Genetic Resources and Agriculture. FAO, Rome, Italy.
- FAO. 2011. Segundo Plan de acción mundial para los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. En: <http://www.fao.org/agriculture/crops/mapa-tematica-del-sitio/theme/seeds-pgr/gpa/es/>
- FAO. 2015a. Coping with climate change – the roles of genetic resources for food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- FAO. 2015b. Directrices voluntarias en apoyo de la integración de la diversidad genética en la planificación nacional de la adaptación al cambio climático. Comisión de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura. Roma, 2015.
- Flores-Palacios X. 1997. Contribution to the Estimation of Countries' Interdependence in the Area of Plant Genetic Resources. Background Study Paper No. 7, Rev. 1. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture
- Fu YB. 2017. The Vulnerability of Plant Genetic Resources Conserved Ex situ. *Crop Science*, 57: 2314-2328.
- Hernández E. 2013. Cultivos infrutilizados en España: pasado, presente y futuro. *Ambienta*, 102: 38-55.
- Heywood VH, Dulloo ME. 2005. In situ Conservation of Wild Plant Species—a Critical Global Review of Good Practices. IPGRI Technical Bulletin No. 11. FAO & IPGRI. IPGRI, Rome.
- Hunter D, Heywood VH (eds). 2010. *Crop Wild Relatives: A Manual of in situ Conservation*. Earthscan, London.
- Iriondo JM, Maxted N, Dulloo ME (eds). 2008. *Conserving Plant Genetic Diversity in Protected Areas*: CAB International, Wallingford.
- Jarvis A, Lane A, Hijmans R. 2008. The effect of climate change on crop wild relatives. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 126: 13–23.
- Jarvis A, Upadhyaya H, Gowda CLL, Aggarwal PK, Fujisaka S, Anderson B. 2015. Plant genetic resources for food and agriculture and climate change. En: *Coping with climate change – the roles of Genetic Resources for Food and Agriculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. Pp: 9-20.
- Kell S, Marino M, Maxted N. 2017. Bottlenecks in the PGRFA use system: Stakeholders' perspectives. *Euphytica* 213: 170, 24 pp.



- Khoury CK, Achicanoy HA, Bjorkman AD, Navarro-Racines C, Guarino L, Flores-Palacios X, Struik PC. 2015. Where our food crops come from: A new estimation of countries' interdependence in plant genetic resources. CIAT Policy brief, 25. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 4 pp. Cali, Colombia.
- Lusty C, Guarino L, Toll J, Lainoff B. 2014. Genebanks: Past, Present and Optimistic Future. En: NK Van Alfen (ed) Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. Elsevier. Amsterdam. Pp: 417-431.
- MAPAMA. 2017. Normativa española en materia de ABS. Jornada Técnica sobre el Acceso y la Utilización de los Recursos Genéticos en el sector de la Mejora Vegetal. Madrid, 28 de noviembre de 2017.
- Maxted N. (ed). 2012. Agrobiodiversity Conservation: Securing the Diversity of Crop Wild Relatives and Landraces. CAB International, Wallingford.
- Naylor R, Falcon W, Fowler C. 2007. The Conservation of Global Crop Genetic Resources in the Face of Climate Change. Summary Statement from a Bellagio Meeting held on September 3-7, 2007. Department for International Development. Discussion Paper. 20 pp.
- Padulosi S, Heywood V, Hunter D, Jarvis A. 2011. Underutilized species and climatic change: current status and outlook. En: SS Tadvav, RJ Redden, L Hatfield, H Lotze-Campen, AE Hall (eds) Crop Adaptation to Climatic Change. John Wiley & Sons, Ltd. Sussex. Pp: 507-521.
- Padulosi S, Hodgkin T, Williams JT, Haq N. 2002. Underutilized crops: trends, challenges and opportunities in the 21st Century. In: JMM Engels et al. (eds) Managing Plant Genetic Resources, pp. 323-338. CAB International, Wallingford, UK and IPGRI, Rome, Italy.
- Padulosi S, Mal Bhag, Ravi S Bala, Gowda J, Gowda KTK, Shanthakumar G, Yenagi N, Dutta M. 2009. Food security and climate change: role of plant genetic resources of minor millets. Indian Journal of Plant Genetic Resources, 22: 1-16.
- Pardo de Santayana M, Morales R, Aceituno L, Molina M (eds) 2014. Inventario español de conocimientos tradicionales relativos a la biodiversidad. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid. 411 pp.
- Parra-Quijano M, Iriondo JM, Torres E, De la Rosa L. 2011. Evaluation and Validation of Ecogeographical Core Collections using Phenotypic Data. Crop Science, 51: 694-703. doi:10.2135/cropsci2010.05.0273

- Red Andaluza de Semillas “Cultivando Biodiversidad”. 2011. Memoria final de la Actividad sobre la Guía de conocimientos sobre utilización y manejo tradicional ligadas a las variedades autóctonas. Red Andaluza de Semillas “Cultivando Biodiversidad” (ed). Sevilla.
- Rubio-Teso L, Torres E, Parra-Quijano M, De la Rosa L, Fajardo J, Iriondo JM. 2018. National Inventory and Prioritization of Crop Wild Relatives in Spain. *Genetic Resources and Crop Evolution* (En prensa).
- Snook LK, Dulloo ME, Jarvis A, Scjeldeman X, Kneller M. 2011. Crop Germplasm Diversity: The role of Gene Bank Collections in Facilitating Adaptation to Climate Change. En: SS Tadvav, RJ Redden, L Hatfield, H Lotze-Campen, AE Hall (eds) *Crop Adaptation to Climatic Change*. John Wiley & Sons, Ltd. Sussex. Pp: 495-506.
- Vernooy R, Shrestha P, Sthapit B, Ramirez, M. (eds.) 2016. Bancos comunitarios de semillas: orígenes, evolución y perspectivas. Bioversity International, Lima, Perú. 1ª ed.
- Weise S, Oppermann M, Maggioni L, Hintum TJL van, Knüpffer, H. 2017. EURISCO: The European search catalogue for plant genetic resources. *Nucleic Acids Research*, 45: 1003- 1008, <https://doi.org/10.1093/nar/gkw755>
- Williams DE. 2013. Cultivos infrautilizados, cambio climático y un nuevo paradigma para la agricultura. *Ambienta*, 102: 56-65.
- Yamasaki, F, Borrayo E, Castro-Cortes ME, Martínez-Peña MD, Takeya, M. (2016). Development of a National Center of Genetic Resources Passport Database: Managing Agriculture, Forestry, Livestock, Microbial, and Aquatic Genetic Resources with an Integrated Schema. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 50: 387-393.



Capítulo III.

FRUTALES DE HUESO Y PEPITA

Ignasi Batlle^{1*}, Ignasi Iglesias¹, Celia M. Cantin¹, Maria Luisa Badenes², Gabino Rios², David Ruiz³, Federico Dicenta³, José Egea³, Margarita López-Corrales⁴, Engracia Guerra⁴, José Manuel Alonso⁵, Rafael Socias i Company⁵, Javier Rodrigo⁵, Federico García-Montiel⁶ y Jesús García-Brunton⁶

- 1 Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias (IRTA)
- 2 Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA)
- 3 Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC)
- 4 Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICITEX)
- 5 Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA)
- 6 Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA)

*Coordinador: ignasi.batlle@irta.es

CONTENIDO:

1. Introducción general
2. Cambio climático y perspectivas de futuro.
3. Manzano
 - 3.1. Introducción y perspectivas de futuro
 - 3.2. Objetivos de mejora





- 3.3. Biotecnología aplicada a la mejora genética
- 3.4. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en mejora
4. Peral
 - 4.1. Introducción y perspectivas de futuro
 - 4.2. Objetivos de mejora
 - 4.3. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 4.4. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en mejora
5. Melocotonero
 - 5.1. Introducción y perspectivas de futuro
 - 5.2. Objetivos de mejora
 - 5.3. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 5.4. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en mejora
6. Ciruelo
 - 6.1. Introducción y perspectivas de futuro
 - 6.2. Objetivos de mejora
 - 6.3. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 6.4. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en mejora
7. Albaricoquero
 - 7.1. Introducción y perspectivas de futuro
 - 7.2. Objetivos de mejora
 - 7.3. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 7.4. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en mejora
8. Cerezo
 - 8.1. Introducción y perspectivas de futuro
 - 8.2. Objetivos de mejora
 - 8.3. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 8.4. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en mejora.
9. Almendro
 - 9.1. Introducción y perspectivas de futuro
 - 9.2. Objetivos de mejora
 - 9.3. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 9.4. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en mejora
10. Bibliografía

Capítulo III.

FRUTALES DE HUESO Y PEPITA

1. Introducción general

Las siete especies frutales de zonas templadas consideradas (manzano, peral, melocotonero, ciruelo, albaricoquero, cerezo y almendro) pertenecen a la familia *Rosaceae*, el manzano al género *Malus*, el peral al *Pyrus* y las otras cinco al género *Prunus*.

El manzano, el peral y el melocotonero, han sido tradicionalmente las tres especies de fruta dulce más importantes de España. En la última década se ha unido con particular relevancia el cerezo, seguido por el albaricoquero y el ciruelo. Estas seis especies ocupaban en 2017 una superficie de 205.177 ha. La producción media para el periodo 2015-2017 fue de 2.579.400 t anuales, lo que aportó en el año 2016 el 14,2% a la Producción Final Agraria (PFA). Considerando la Producción Final Agrícola, la fruta dulce ocupa el segundo lugar tras el sector hortícola con un valor estimado para el 2016 de 6.400.000 € anuales. La distribución de las superficies ocupadas por las diferentes especies en el año 2017 y de las producciones medias anuales correspondientes al 2015-2017 se exponen en la Figura 1, en donde se observa la predominancia del melocotonero, especialmente cuando se analizan las producciones. Le siguen en importancia el manzano, el peral, el cerezo, el albaricoquero y el ciruelo. El cerezo es después del melocotonero la especie que más ha incrementado superficie en las dos últimas décadas, situándose en tercer lugar después del manzano.

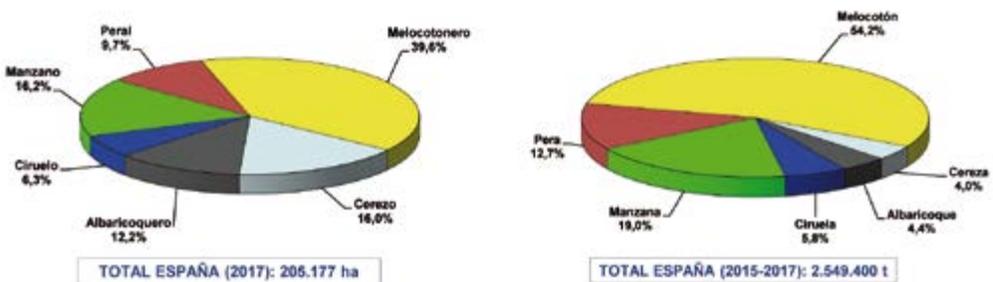


Figura 1. Distribución de las superficies (2017) y de las producciones (valores medios del período 2014-2017) de seis especies de fruta dulce cultivadas en España.

Fuente: elaboración propia a partir MAPAMA y AFRUCAT.

Además de la actual situación en lo referente a superficies y producciones, se constata también la evolución de las mismas, la cual se muestra en la Figura 2 para las producciones comparando dos períodos de referencia (1985-1987 y 2015-2017). Puede observarse como hechos más destacables el fuerte incremento del melocotonero y el importante descenso del manzano. El cultivo del peral pierde también importancia mientras que el cerezo y el ciruelo aumentan su producción.

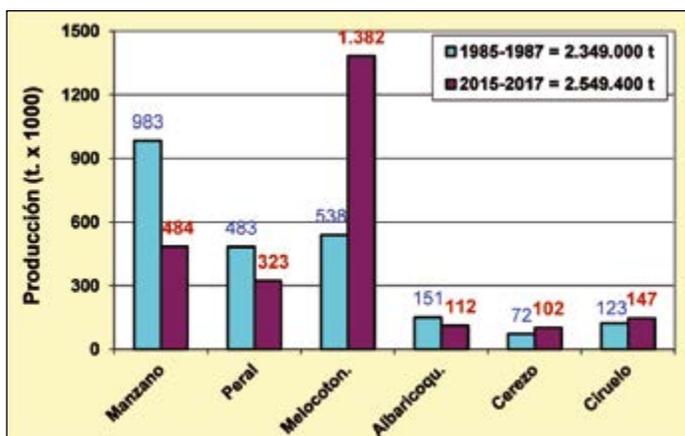


Figura 2. Producciones medias anuales correspondientes a los períodos 1985-1987 y 2015-2017 de seis especies de fruta dulce producidas en España.

Fuente: elaboración propia a partir MAPAMA y AFRUCAT.

La evolución productiva de estos seis frutales se debe a la priorización del sector productor hacia aquellas zonas mejor adaptadas a sus requerimientos ecológicos y caracterizadas principalmente por climas secos y calurosos. De forma general, las cuatro especies de hueso se adaptan mejor a estas zonas que las dos de pepita, en concreto el melocotonero, el albaricoquero y el ciruelo. Respecto al ciruelo, se debe distinguir entre el europeo, adaptado a zonas atlánticas y el japonés mejor adaptado a zonas mediterráneas. El cerezo se adapta mejor a zonas frías mientras que el almendro se adapta mejor a zonas cálidas. Entre las dos especies de pepita, la mayoría de variedades de manzano presentan una adaptación deficiente a climas cálidos por su efecto negativo en la coloración de los frutos y en su calidad. El peral está en cambio, mejor adaptado a dichas condiciones climáticas.

España es el tercer productor mundial de almendra después de Estados Unidos y Australia, con aproximadamente el 5% de la producción. La producción media de los años 2001-2017 ha sido de 41.880 t, con grandes oscilaciones según los años

(Figura 3). Sin embargo, España es el país que mayor superficie dedica al cultivo del almendro, con 487.700 ha productivas (MAPAMA 2016), lo que supone una productividad de unos 86 kg/ha de pepita, muy baja respecto a Estados Unidos y Australia, donde se sitúa alrededor de 2300 kg/ha. Estas diferencias en productividad están causadas en gran medida a que en estos países las condiciones edafo-climáticas son muy favorables al cultivo, las plantaciones son exclusivamente en regadío con elevadas dotaciones de agua, muy tecnificadas y con una gestión altamente cualificada, mientras que en España, las plantaciones que reúnen estas condiciones son todavía muy escasas.

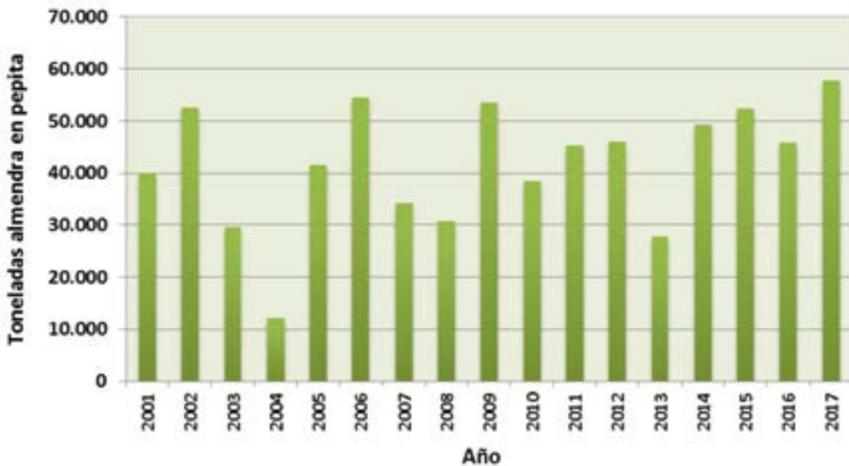
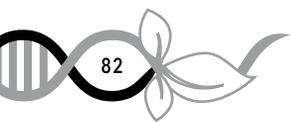


Figura 3. Producción de almendra en pepita de España durante los últimos 17 años. (Cooperativas Agro-Alimentarias).

2. Cambio climático y perspectivas de futuro

El cambio climático afecta en gran medida al crecimiento de las plantas leñosas, a su producción y a la calidad del fruto. Con respecto al frío invernal, el efecto más observado del cambio climático es su insuficiencia a lo largo de las últimas décadas; con una proyección futura pesimista según diversos modelos. Los efectos varían según la especie, su origen botánico, sus necesidades ecológicas y su respuesta fisiológica frente al estrés ambiental, tanto en la fase de reposo invernal como en las de brotación-floración y desarrollo vegetativo y productivo. El proceso de entrada y salida del reposo invernal de los frutales caducifolios es complejo. En estas especies se producen eventos que relacionan iniciación floral, antesis, dormancia, requerimientos en frío y



brotación. La comprensión de estos procesos es importante y crítica para el desarrollo de sistemas productivos en una fruticultura intensiva necesaria para producir más fruta en un clima en calentamiento global.

Los frutales caducifolios tienen un ciclo vegetativo-productivo de dos años separados por una parada vegetativa modulada por el frío invernal. En el pasado se ha constatado que el aumento de las temperaturas invernales en las zonas productoras de melocotonero y en consecuencia la menor disponibilidad de frío, aumenta la demanda de variedades con bajas necesidades en frío (Hennessy and Clayton-Green, 1995. Topp et al. 2008). Las consecuencias que produce la falta de la satisfacción completa de las necesidades de frío en la cantidad y calidad de fruta, tanto a corto como a largo plazo, son aspectos poco conocidos.

Una variedad tiene bajos costes de producción (y potencialmente altas producciones) si está bien adaptada a las condiciones ecológicas donde se cultiva (Monet y Bassi, 2008). Por ello, desde el punto de vista de adaptación y comportamiento productivo, se considera que la mayor limitación actual en zonas cálidas de los frutales templados considerados es satisfacer sus necesidades en frío, y con este objetivo se orientan los actuales programas de mejora.

La menor disponibilidad de frío invernal, provoca en algunas variedades de estos frutales templados brotaciones irregulares y producciones menores y más variables con frutos de menor calidad. Con respecto a la floración-brotación, salida de reposo invernal o incluso inviernos con temperaturas anormalmente cálidas inducen una floración anticipada en muchas variedades de melocotonero de necesidades medias de frío. Ello supone una mayor exposición y riesgo frente a las heladas primaverales. La mejora realizada para floración tardía en algunas especies, particularmente en almendro, puede considerarse contraria a su adaptación al cambio climático.

Durante el período vegetativo, el efecto de las temperaturas cada vez más elevadas y variables es destacado en el manzano. Así en variedades rojas o bicolors, el desarrollo del color depende en gran medida de las temperaturas (Iglesias et al., 2016a). Frente a este inconveniente, la mejora de las últimas décadas, asistida por el uso de marcadores moleculares ha conducido con éxito a la obtención de nuevas variedades de alta coloración (Chagné et al. 2016) y de elevada calidad gustativa, incluso en climas cálidos tal y como se observa en la Figura 4. En dichas condiciones climáticas, otros componentes de calidad del fruto como son la firmeza, los contenidos de sólidos solubles, de ácidos o de componentes aromáticos y la jugosidad de la pulpa también se ven negativamente afectados.

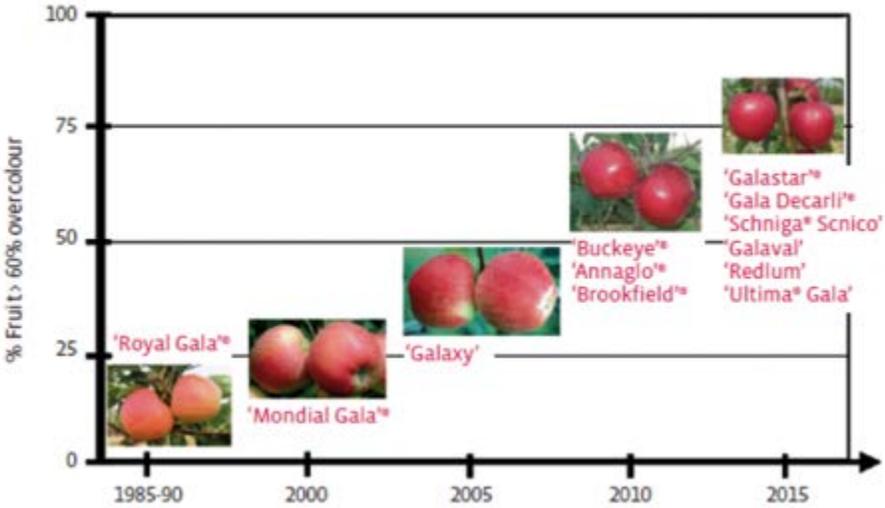


Figura 4. Porcentaje de coloración del fruto (>60% de color) a lo largo del período 1985-2015 correspondiente a diferentes clones de 'Gala' en el Valle del Ebro (España), de menor a mayor coloración (Iglesias et al., 2016a).

La adaptación al cambio climático como objetivo en la mejora genética varietal de la mayoría de especies frutales de pepita y hueso no ha sido contemplado hasta recientemente. Sin embargo, se puede considerar que se ha realizado mejora de forma indirecta para adaptar su producción en zonas generalmente de clima templado-cálido. Esta situación ha exigido el uso en mejora de los recursos genéticos mejor adaptados a estas zonas climáticas.

El efecto del cambio climático en la producción de frutales caducifolios de zonas templadas tiene similitudes con las limitaciones de su cultivo en zonas cálidas y subtropicales (Brasil, Egipto, Turquía, Marruecos, Túnez, Sudáfrica, Israel, etc.). En la Península Ibérica, dentro de su gran variabilidad climática, hay dos zonas donde la incidencia del calentamiento global está siendo importante como son el sureste y el Valle del Guadalquivir. En los frutales de pepita existen dos factores determinantes de la adaptación al calentamiento climático (Hauagge y Cummins, 2000): la habilidad de la especie/variedad a la brotación, floración, cuajado y crecimiento satisfactorio (naturalmente o bajo adecuadas prácticas culturales) y la capacidad para producir fruta de calidad con temperaturas superiores a las óptimas.

El cambio climático experimentado en las dos últimas décadas ha tenido múltiples efectos destacando, además del aumento de las temperaturas estivales, una menor dis-

ponibilidad de frío invernal que ha originado como resultado el adelanto de la fecha de floración y el consecuente incremento de riesgo frente a heladas primaverales. Además en zonas del sur de España, ha originado algunos años producciones irregulares y de menor calidad. La mejora genética deberá desarrollar nuevas variedades con menores exigencias en frío invernal y que a su vez tengan una floración adecuada a la zona climática de cada cultivo, manteniendo los demás atributos referentes al buen comportamiento agronómico y calidad de los frutos. La mejora genética clásica junto con el uso de herramientas genómicas modernas es considerada la mejor combinación para avanzar en el desarrollo de nuevas variedades por su adaptación al cambio climático.

Por otra parte, la progresiva eliminación del uso de reguladores de crecimiento para compensar la falta de frío invernal obliga a la adaptación de los frutales al cambio climático a través de su mejora genética. Aunque se han observado efectos del portainjerto en la época e intensidad de brotación y en el crecimiento de variedades de frutales de hueso y pepita no se ha contemplado en este capítulo.

3. Manzano

3.1. INTRODUCCIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

El manzano ocupaba en 2017 en España una superficie de 33.204 ha con una producción media para el período 2015-2017 de 483.700 t (Figura 1). El hecho más destacable de esta especie es su progresiva regresión en las últimas décadas (Figura 2) como lo demuestra la cifra de que en 1985 su superficie alcanzaba las 58.210 ha. Su cultivo se localiza fundamentalmente en las partes más bajas del Valle del Ebro, también en la Comunidad Valenciana, León y Soria siendo Cataluña y Aragón las principales regiones productoras. 'Golden Delicious' es la variedad más importante con más de la mitad de la producción, seguida por 'Gala', 'Red Delicious' y 'Fuji'. Más del 80% del cultivo se encuentra en zonas geográficas caracterizadas por climas secos y calurosos con temperaturas máximas estivales que superan los 35°C y mínimas en torno a los 20°C. Estas condiciones climáticas no son las ideales para el manzano en particular para variedades de maduración estival, dado que afectan negativamente al color de los frutos. Además en variedades del grupo 'Golden' su firmeza es inferior y en otras variedades rojas como 'Fuji', la incidencia de golpes de sol son importantes. Esta problemática se ha acentuado a lo largo de las dos últimas décadas por la tendencia a veranos más calurosos resultando en una continua pérdida de competitividad frente a la manzana de importación (Francia,



Italia, etc.), producida en climas más idóneos. Ello ha originado en la última década el arranque de plantaciones y su sustitución por especies de hueso, principalmente melocotonero.

Dicha pérdida de competitividad se ha acrecentado por el cambio climático de las dos últimas décadas hacia veranos más secos y calurosos. Aún y así, el sector productor se ha adaptado a dicha situación bajo dos estrategias:

- La plantación de nuevas variedades con una mejor aptitud a la coloración incluso en climas cálidos, ya sean clones de más color de los principales grupos varietales ('Gala', 'Delicious', 'Fuji', etc.) o nuevas variedades de alta coloración como 'Modí' o 'Story' (Iglesias et al., 2016b). También con la plantación de variedades de recolección tardía como 'Pink Lady', seleccionada en un clima caluroso como el suroeste de Australia, cuya maduración coincide con oscilaciones térmicas diarias favorables para la coloración de los frutos. En todos los casos la mejora de la calidad gustativa es un factor adicional y básico pensando en el consumidor.
- La reubicación del manzano en zonas con condiciones climáticas favorables a dicha especie en particular temperaturas en un rango óptimo que son las que se dan en altitud y/o zonas de montaña. Es la opción seguida hace décadas por Italia o Francia con la plantación en zonas alpinas y de montaña.

El manzano en España cuenta con un importante potencial de crecimiento, dado que se importan alrededor de 250.000 t de manzana anualmente, principalmente de Italia y Francia. Si el sector es capaz de ofrecer la calidad que el mercado y los consumidores demandan, las expectativas son buenas. Ofrecer dicha calidad pasa por la introducción a escala comercial de variedades mejor adaptadas a climas calurosos y paralelamente su plantación en altitud para aquellas variedades que produzcan mejor en esas condiciones.

3.2. OBJETIVOS DE MEJORA

El manzano (*Malus x domestica* Borkh.) es un híbrido interespecífico de origen aloploiploide. Existen 25-30 especies en el género *Malus*, aunque sólo algunas se utilizan en su mejora. En los últimos años ha habido un gran impulso en la mejora genética de manzano, y sobre todo en el conocimiento para mejorar la eficiencia del proceso de selección. Uno de los objetivos más estudiados en los últimos años, especialmente en Europa, es el control genético de la resistencia a enfermedades y plagas comunes en manzano.



Relacionados con la climatología, actualmente los esfuerzos de mejora se centran en los siguientes objetivos:

- Adaptación a las condiciones medioambientales de cada zona de cultivo, particularmente climas cálidos con falta de frío invernal.
- Buen comportamiento agronómico que implica producciones constantes y de calidad, con baja sensibilidad a los golpes de sol y a desórdenes fisiológicos del fruto.
- Alta coloración incluso en zonas de climas extremadamente cálidos, secos y con elevadas temperaturas estivales y bajas oscilaciones térmicas entre el día y la noche.
- Mejora de la calidad organoléptica del fruto: especialmente la textura de la manzana se ha convertido en el mayor objetivo para la mejora de la calidad del fruto, fundamentalmente en zonas cálidas donde es difícil obtener buenas texturas. Se buscan frutos con firmezas medias pero alta crocancia y jugosidad, con sabores desde el dulce al equilibrado y a poder ser intensos y especiales. También se mejora la intensidad de sabor, buscando sabores especiales, y un buen equilibrio entre dulzor y acidez.
- Mejora de la calidad postcosecha: se buscan variedades con baja sensibilidad a desórdenes poscosecha como el pardeamiento interno, el rajado pistilar, o el "bitter pit" o mancha amarga. Además se buscan variedades que permitan una larga conservación sin pérdidas en la calidad organoléptica (especialmente pérdida de firmeza y aparición de harinosidad).
- Resistencia a plagas principalmente pulgón ceniciento (*Dysaphis plantaginea*) y pulgón lanífero (*Eriosoma lanigerum*) y enfermedades, fundamentalmente moteado (*Venturia inaequalis*), oidio (*Podosphaera leucotricha*), fuego bacteriano (*Erwinia amylovora*) y chancro (*Valsa ceratosperma*).
- Arquitectura del árbol con el objetivo de facilitar el manejo y disminuir los costes de producción.
- Reducción de la alergenicidad: el aumento de alergias alimentarias en las sociedades modernas, ha impulsado la investigación en este ámbito. En los últimos años se han identificado y mapeado cuatro alérgenos principales en el genoma del manzano (Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3 y Mal d 4) (Gao et al., 2005a; 2005b). Además, se ha comprobado la implicación de las proteínas transferasas de lípidos (LTP) en las alergias a la fruta (Sancho et al., 2008).



- Nuevas tipologías de fruto, como fruta pequeña tipo “snack”.
- Aumentar las funciones nutraceuticas, especialmente frutos con pulpa roja que poseen mayor contenido en antocianos y por tanto en capacidad antioxidante.

3.3. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEJORA GENÉTICA

La publicación de la secuencia completa del genoma del manzano en el 2010 (Velasco et al., 2010) ha permitido avanzar en el desarrollo de las técnicas biotecnológicas aplicadas en esta especie. En los últimos años se ha producido un gran avance en la construcción de mapas genéticos de esta especie a partir de los primeros mapas publicados. Actualmente existen multitud de mapas con diferente densidad de marcadores.

En cuanto al desarrollo y uso de marcadores moleculares, actualmente ha decrecido el uso y desarrollo de SSRs (“simple sequence repeats”), y ha aumentado la importancia de los SNPs (“single nucleotide polymorphism”), que son hoy en día los marcadores más utilizados y en los que más se está investigando.

El uso de marcadores moleculares ligados a caracteres de interés en los programas de mejora genética de manzana está actualmente en aumento, a pesar de que sigue siendo minoritario. La mayor parte de marcadores moleculares utilizados están ligados a resistencia a enfermedades como el moteado, para el que se conocen marcadores ligados a diferentes fuentes de resistencia (alelos *Vf*, *Va*, *Vb*, *Vbj*, *Vm* y *Vr*) (Bus et al., 2005; 2011; Patocchi et al., 2009). En el caso del oidio del manzano, se han descrito diferentes fuentes de resistencia (*PI1*, *PI2*, *Plw*, *Pld*) (James et al., 2004, Dunemann et al., 1999; 2007). Sin embargo, los marcadores moleculares disponibles actualmente siguen bajo estudio dado que su relación con la susceptibilidad fenotípica no es lo suficientemente robusta.

También se han desarrollado varios marcadores para resistencia al pulgón lanígero (*Eriosoma lanigerum*), pero su robustez es baja. A pesar de que se han dirigido importantes esfuerzos al desarrollo de marcadores para caracteres de calidad, especialmente para el control genético de la textura en manzana (*Md-ACS*, *Md-ACO*), el uso de estos marcadores en los programas de mejora es todavía anecdótico, debido a la escasa eficiencia de dichos marcadores ocasionada fundamentalmente por su control poligénico.

El reciente desarrollo de un marcador ligado al gen que controla la coloración roja de la piel de la manzana (*MdMYB10*, Chagne et al., 2016) con una buena robustez validada en distintos fondos genéticos, está permitiendo su uso como herramienta de SAM en algunos programas de mejora.

3.4. RECURSOS FITOGENÉTICOS Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS PARA SU USO EN MEJORA

Solamente hay algunas variedades de manzano con necesidades de frío de 600 CU o inferiores desarrolladas para zonas templadas (Hauagge y Cummins, 2000). Existen diferentes especies silvestres de *Malus* y sus híbridos con el manzano cultivado que presentan el carácter de bajas necesidades de frío invernal. Todas ellas producen generalmente frutos de baja calidad y limitan su valor para el desarrollo de variedades a través de cruzamientos. También existen diferentes cultivares locales de bajas necesidad de frío pero de escasa calidad de fruto en países Mediterráneos como Túnez (región de Sfax). Algunos de ellos se han utilizado en programas de mejora del manzano en Israel. En el sur de China existen cultivares locales de pequeño fruto y alta coloración pero no se han introducido en otros países y utilizado para mejora. La variedad más conocida de bajas necesidades de frío es 'Anna' (derivada de 'Golden Delicious') desarrollada en Israel. 'Anna' tiene al menos un gen dominante junto con otros genes menores controlando la necesidades de frío (Hauagge y Cummins, 1991). Se han realizado programas también en Australia ('Cripps' series), Sudáfrica, Brasil, Panamá y en Florida (EEUU). En el programa de mejora de variedades de manzano del IRTA-PFR-FruitFutur se han utilizado selecciones neozelandesas PFR de alta expresión de la coloración rojiza de la piel para la selección en las cálidas condiciones de cultivo del Valle del Ebro obteniéndose buenos resultados en una primera generación y mejorando su textura en una segunda generación a partir de genotipos adaptados combinándolos con selecciones PFR de gran calidad organoléptica.

4. Peral

4.1. INTRODUCCIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

El peral ha sido tradicionalmente, junto al manzano, la especie de pepita más importante cultivada en España. En 2017 ocupaba una superficie de tan solo 18.898 ha, con una producción media para el período 2015-2017 de 323.000 t (Figura 1). Al igual que se ha expuesto para el manzano, esta especie ha experimentado una importante recesión en las últimas décadas (Figura 2), dado que en 1985 ocupaba una superficie de 36.200 ha. Recesión debida principalmente a que se trata de un cultivo que requiere más tecnificación, con producciones más aleatorias que otras especies y por el efecto negativo del fuego bacteriano y de la falta de reguladores de crecimiento efectivos. Su cultivo se localiza principalmente en el Valle del Ebro, con Cataluña y Aragón



como principales regiones productoras, seguidas por La Rioja-Navarra, Murcia y Castilla-León. Esta especie se encuentra situada mayoritariamente en zonas con veranos secos y calurosos a los que esta especie se adapta bien, excepto algunas variedades concretas. De hecho, las temperaturas estivales elevadas, al contrario que en el manzano, no afectan negativamente a la calidad fruto más bien al contrario, en algunas como 'Williams' mejoran la calidad de la epidermis. La producción se basa en variedades tradicionales siendo 'Conference' la más importante, seguida por 'Blanquilla', 'Limonera' y 'Williams'.

La tendencia descrita en las últimas décadas hacia veranos más secos y calurosos que afecta negativamente a la calidad en manzana, en pera apenas tiene efectos negativos excepto en algunas variedades como 'Conference' por provocar el secado de hojas, más acentuado en climas secos y con baja humedad ambiental.

La mejora varietal en esta especie, y al contrario que en el manzano, no se ha dirigido principalmente a la mejora a la adaptación a condiciones climáticas cambiantes con mayores temperaturas y menor pluviometría, sino a la mejora en la calidad gustativa/textura y/o presentación de los frutos y a la ampliación del calendario de maduración. Diferentes variedades asiáticas han sido la fuente de caracteres innovadores como son el color de la epidermis, la forma, el sabor y la textura (Iglesias et al., 2015). Además la introducción de resistencias frente a enfermedades, como el moteado o el fuego bacteriano, ha estado muy presente, disponiendo de numerosas variedades resistentes.

El futuro del peral en España, tras años de recesión continuada, cuenta con un potencial de crecimiento considerable por la disminución de la oferta. Sin embargo, su potencial está limitado por la innovación varietal dada la dificultad que supone el desarrollo a escala comercial de nuevas variedades. La innovación pasa en gran medida por la especialización de su cultivo y por la disponibilidad de plantaciones eficientes y con un buen potencial de producción y calidad.

4.2. OBJETIVOS DE MEJORA

El peral (*Pyrus communis* L.) posee la estructura varietal más estable de la mayoría de las especies frutales. A pesar de que la actividad de mejora varietal en los últimos años ha obtenido muchas nuevas variedades, sólo unas pocas variedades se cultivan en todo el mundo. El alto nivel de recombinación genética junto con los avances en la selección para atributos como tamaño de fruto, apariencia, sabor, aptitud poscosecha y resistencia a enfermedades y plagas, han dado como resultado un gran número



de cultivares con gran diversidad fenotípica. La globalización en el mercado de la fruta obliga a la obtención de cultivares con una excelente calidad del fruto. Para ello, y dada la dificultad del cultivo de esta especie, es necesaria la adaptación de la variedad a cada zona de cultivo. Esto justifica la existencia de programas de mejora en partes del mundo con distintas climatologías.

Uno de los objetivos en los programas de mejora actuales, es la obtención de híbridos entre pera europea y asiática con el fin de obtener nuevas variedades con combinaciones novedosas de textura, sabor y presentación, y para mejorar la resistencia a enfermedades y plagas.

Actualmente, existen unos 15 programas de mejora de variedades de pera en Europa, y solamente uno en España (IRTA-PFR-FruitFutur). Los objetivos de mejora de estos programas son los siguientes:

- Adaptación a factores medioambientales como el frío invernal, heladas primaverales y altas temperaturas estivales.
- Resistencia a plagas: principalmente la psylla europea (*Cacopsylla pyri*), vector del fitoplasma responsable del decaimiento del peral y a enfermedades: fundamentalmente fuego bacteriano (*Erwinia amylovora*), moteado (*Venturia pyrina*) y mancha negra (*Stemphylium vesicarium*).
- Extensión del calendario de cosecha, obtención especialmente de variedades de maduración temprana y tardía.
- Nuevas tipologías de fruto, como híbridos entre pera europea y asiática con nuevas formas, texturas y sabores, o frutos de piel rojo intenso.
- Frutos con apariencia atractiva: dependiendo del tipo de fruto, se buscan frutos atractivos con “russeting” completo en el caso de poseerlo, peras con una chapa de color rojo, peras verdes/amarillas de piel muy limpia, o peras asiáticas con una coloración roja brillante en toda su superficie. Se buscan calibres medios, con formas piriformes y homogeneidad entre frutos, aunque cualquier innovación en la presentación de los frutos puede ser interesante.
- Excelente calidad organoléptica: se buscan texturas fundentes (mantecosa) en el caso de la pera Europea, o texturas crocantes y jugosas en híbridos y en pera asiática. Además se exploran nuevos sabores y aromas, y alto contenido en sólidos solubles.
- Elevada aptitud poscosecha, con baja susceptibilidad a los desórdenes producidos durante la conservación, y con larga vida útil.



4.3. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEJORA GENÉTICA

A pesar de la importancia del cultivo a nivel mundial, se han llevado a cabo menos estudios de investigación en peral que en otros miembros de la familia de las Rosáceas como manzano, melocotonero y fresa. A pesar de ello, recientemente se ha publicado la secuencia completa del genoma de la pera asiática (*Pyrus x bretschneideri*) (Wu et al., 2012), seguido de la publicación de la variedad de pera europea 'Barlett' (Chagné et al., 2014). Estos mapas abren oportunidades para el desarrollo de plataformas de genotipado de alta densidad como genotipado por secuenciación ("genotyping-by-sequencing GBS"), utilizadas actualmente para la construcción de mapas, selección genómica, análisis de asociación en genoma completo ("genome-wide association" (GWA), y estudios de diversidad genética.

En cuanto a la utilización de marcadores moleculares para aumentar la eficiencia de la mejora en pera, todavía son muy escasos los avances en esta especie. Solamente hay descritos dos marcadores ligados a caracteres de interés en mejora, para la susceptibilidad a mancha negra y a moteado, ambos descritos en pera asiática.

Muy recientemente, se ha realizado un estudio de diversidad genética, filogenia y estructura poblacional mediante GBS en pera asiática y europea, en el que se han identificado más de 15.000 marcadores tipo SNP de alta calidad (Kumar et al., 2017). En este estudio también se ha utilizado el GWA con el fin de identificar zonas del genoma que controlan importantes características del fruto. Sin embargo, los marcadores con mayor efecto encontrados en este estudio solamente explican menos de un 10% de la variabilidad fenotípica, lo que indica el carácter complejo y poligénico de los caracteres de interés.

4.4. RECURSOS FITOGENÉTICOS Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS PARA SU USO EN MEJORA

Comparado con manzano el esfuerzo realizado en mejora de peral para bajas necesidades de frío ha sido menor. Dentro del género *Pyrus*, *P. pashia*, *P. kawakamii* y *P. calleriana* son las especies mejor adaptadas a climas cálidos (Bell, 1992). *P. bretschneideri* presenta unas necesidades en frío entre 300-500 CU (Hauagge y Cummins, 2000). *P. kawakamii* se comporta como perennifolia en el sur de California pero es parcialmente caducifolia en zonas más frías. En España, variedades locales como 'Blanquilla' ('Agua de Aranjuez') y 'Castell' referidas como de bajas necesidades en frío, producen aceptablemente en zonas con un mínimo de 800 CU. La variedad italiana 'Coscia' se puede cultivar en el norte de África. 'Carrick' (derivada de 'Seckel') y obtenida en EEUU tiene unos requerimientos sobre 500 CU en el sur del Brasil.



Con el objeto de incorporar resistencia al fuego bacteriano en variedades europeas de peral, se han introducido bajas necesidades en frío invernal a través de su cruzamiento con perales asiáticos. Este germoplasma ha sido la base para el desarrollo de perales con bajas necesidades. Se han obtenido avances importantes en tipos europeos de pera en el rango de 200-400 CU en Florida (EEUU) y Brasil. Sin embargo, han sido observados algunos problemas en este grupo de cultivares como producción inconsistente, esterilidad de polen, pardeamiento del fruto tras su maduración, susceptibilidad a la manipulación y corta vida en expositor. En China se ha realizado mejora de perales para su adaptación a condiciones subtropicales del sur.

En el programa de mejora de variedades de peral del IRTA-PFR-FruitFutur para realizar cruzamientos controlados, se han utilizado selecciones neozelandesas de PFR, con base genética asiática, y se han seleccionado individuos en las cálidas condiciones de cultivo del Valle del Ebro obteniéndose buenos resultados de forma, coloración, sabor y textura. Se desconocen sus necesidades de frío, pero por su origen genético, en algunas de estas selecciones serán probablemente bajas.

5. Melocotonero

5.1. INTRODUCCIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

El melocotonero es la especie de fruta dulce que ha liderado en la última década las producciones y exportaciones españolas de fruta dulce. Las elevadas producciones de los últimos años constituyen un excedente estructural que unido a la disminución del consumo ha provocado crisis reiteradas de precios. España es actualmente el primer productor europeo y el primer exportador mundial de melocotón. Esta especie contaba en 2017 con una superficie cultivada de 81.300 ha, frente a las 60.600 ha de 1985, y una producción media para el período 2015-2017 de 1.382.000 t anuales (Figuras 2 y 3). Su cultivo se encuentra más deslocalizado en comparación con las especies de pepita. El Valle del Ebro sigue siendo la principal área productora, liderada por Aragón y Cataluña, seguidos por Murcia con una importancia relevante, Extremadura, Andalucía y Valencia. La expansión del cultivo se ha producido paralelamente al descenso de la superficie de manzano y de peral. La razón del mismo se basa en varios factores. En primer lugar, se trata de una especie bien adaptada a climas secos y calurosos que es donde el cultivo se sitúa principalmente. En dichas condiciones la incidencia de enfermedades es menor y la calidad del fruto no se ve afectada, incluso mejora. En segundo lugar por un menor coste de la mano de obra en España, lo que unido a elevadas



producciones confiere una mayor competitividad frente a otros países productores. Finalmente, por contar el sector con una infraestructura de poscosecha moderna y adaptada a los mercados de exportación.

La mejora varietal en esta especie ha sido extraordinaria con más de 300 variedades registradas en España en tan solo 10 años y más de 100 introducidas a escala comercial que cubren un amplio período de recolección (Iglesias, 2017). El grupo varietal con mayor innovación ha sido la nectarina amarilla ('Big Top' es la referencia indiscutible), seguido por el melocotón rojo y el melocotón plano con un importante desarrollo en tan solo 10 años. La mejora realizada tanto por programas de mejora nacionales como extranjeros, se ha dirigido a múltiples aspectos como son la ampliación de los calendarios de recolección, la mejora de la presentación de los frutos (color, calibre y forma), la mejora de la calidad y de la producción, y en un lugar no menos importante la adaptación a las menores disponibilidades en frío invernal. La introducción de resistencias frente a enfermedades ha sido hasta ahora poco importante, dado que no se dispone todavía de variedades para ser introducidas a escala comercial.

El futuro del melocotonero en España, y tras años de crecimiento continuado, se encuentra en un periodo difícil por el excedente productivo estructural, el bajo consumo y las crisis de precios recurrentes. Superar esta situación requiere un mejor ajuste entre oferta y demanda, una ordenación de la oferta y de la recuperación del consumo. Las excelentes condiciones edafo-climáticas y el menor coste de la mano de obra respecto a Europa continuarán siendo factores muy favorables para el buen posicionamiento nacional e internacional del melocotón español frente a otros países productores. Desde el punto de vista de innovación varietal, la mejora deberá centrarse en la obtención de variedades más plásticas y con mayor adaptabilidad frente al cambio climático, sin olvidar la introducción de resistencias, su buen comportamiento agronómico y la calidad del fruto.

5.2. OBJETIVOS DE MEJORA

El melocotonero (*Prunus persica*) es una especie con una base genética estrecha pero gran diversidad fenotípica, utilizada tanto para fines ornamentales como para alimentación. La comercialización del melocotón en los últimos años impulsa el desarrollo de nuevas tipologías de frutos para diversificar las opciones de mercado. De hecho, el melocotonero es la especie frutal en la que en las últimas décadas se ha producido la mayor innovación varietal como resultado de los más de 45 programas de mejora genética en curso, entre los cuales, más de 10 se encuentran en España. Durante el



año 2015, se introdujeron en todo el mundo 330 nuevas variedades de melocotón de consumo en fresco (carne fundente), 260 de nectarina y 48 de melocotón de conserva (carne no fundente). El deseado aumento del consumo de melocotón depende del marketing, de la consistencia en la calidad y de su coste. El mercado actual implica globalización y necesidad de producto durante todo el año, y subraya la importancia de factores como los beneficios del consumo de fruta en la salud y la seguridad alimentaria. Todos estos factores han modificado los objetivos de mejora actuales. Actualmente relacionados con la climatología, los esfuerzos se centran en los siguientes objetivos:

- Adaptación a las condiciones medioambientales de cada zona de cultivo (particularmente al clima con falta de frío invernal)
- Floración tardía para evitar el riesgo de heladas primaverales
- Adaptación a condiciones de ambientes tropicales y subtropicales, especialmente al estrés hídrico y altas temperaturas
- Por su relación con las condiciones agroclimáticas, también se trabaja en la resistencia – tolerancia a plagas (pulgón *Myzuz persicae*, trips *Frankiniella* sp, mosca de la fruta *Ceratitis capitata principalmente*), enfermedades fúngicas *Monilinia* sp., Oidio *Sphaerotheca pañosa*, Abolladura *Taphrina deformans*) y bacterianas (*Xanthomonas* sp.), que permitan reducir o eliminar la aplicación de productos fitosanitarios para su control.

Otros objetivos

- Extensión de la temporada de cosecha con variedades muy tempranas y muy tardías
- Arquitectura del árbol, búsqueda de portes adecuados que faciliten las labores culturales y reduzcan el coste del cultivo
- Nuevas tipologías de fruto, que permitan diversificar el producto en el mercado (frutos albinos, frutos planos tipología sanguina, frutos con hueso comestible, etc.)
- Mejor aptitud para la poscosecha (menor susceptibilidad a desórdenes fisiológicos durante conservación y mayor vida útil)
- Mayor calidad organoléptica (mayor dulzor, texturas crujientes), nuevos sabores, etc.)
- Mayor valor nutricional, con mayores niveles de fitoquímicos beneficiosos (frutos con pulpa roja con mayor contenido de antioxidantes, mayores contenidos de vitamina C, etc.)

5.3. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEJORA GENÉTICA

La disponibilidad pública de la secuencia genómica del melocotonero (Verde et al., 2013), y la utilización de las nuevas tecnologías de secuenciación masiva (Badenes et al., 2016), han dotado a los programas de mejora tradicional de abundantes bases de datos genómicos y de nuevas y potentes herramientas biotecnológicas.

Estas metodologías, en combinación con estudios de genética clásica, análisis de mutantes y caracterización de caracteres cuantitativos (QTL) han sido empleadas con éxito en la identificación de factores implicados en la regulación de los cambios fenológicos y la tolerancia a los estreses abióticos, ambos importantes determinantes de la capacidad de adaptación a climas cambiantes de árboles de climas templados como el melocotonero.

El melocotonero ha sido ampliamente utilizado en el estudio de la latencia estacional de la yema, considerándose un modelo para otras plantas arbóreas de climas templados. La salida de latencia ocurre después de la percepción cuantitativa de una determinada acumulación de frío dependiente del genotipo, y de este modo facilita la adaptación de cada genotipo a unas condiciones climáticas específicas. La variación de las condiciones climáticas afectará consecuentemente a la adaptación y productividad de melocotoneros y demás frutales por razones fenológicas, y no sólo ambientales (Ríos et al., 2016).

El análisis genético del mutante de melocotonero “*evergrowing - Evergreen*” (Rodríguez et al. 1994), que no deja de crecer por completo durante el invierno, ha facilitado la identificación de los genes “*Dormancy-Associated Mads-box*” (*DAM*) 1-6, una familia génica de 6 factores de transcripción muy similares, cuya inactivación por delección causa la mutación “*evergrowing*” (Bielenberg et al., 2008). La expresión de los genes *DAM* correlaciona con el estado de latencia de las yemas (Jiménez et al., 2010; Leida et al., 2012a). En particular, *DAM6* reduce su expresión en yemas que han salido de latencia y relacionadas con una serie de modificaciones epigenéticas similares a las observadas en el proceso de vernalización en *Arabidopsis thaliana* (Leida et al., 2012b; Ríos et al., 2014).

El análisis de caracteres cuantitativos o QTLs ha confirmado la presencia de un factor genético determinante de la fecha de floración y las necesidades en frío para la brotación en un locus cercano a la posición de los genes *DAM*, además de otros presentes en otros cromosomas (Fan et al., 2010; Romeu et al., 2014; Zhebentyayeva et al., 2014; Hernández Mora et al., 2017).

Del mismo modo que los estudios fenológicos y los factores de la latencia citados anteriormente, los estudios de tolerancia al estrés hídrico y por temperatura también



se han beneficiado del ensamblaje del genoma del melocotonero. La disponibilidad de la secuencia del genoma ha permitido la identificación y descripción completa de la familia de las dehidrinas de melocotonero (Bassett et al., 2015). Además de las dehidrinas, otros genes que codifican proteínas “Late Embryogenesis Abundant” (LEA) y posibles reguladores de la señal de respuesta al estrés hídrico han sido evaluados mediante PCR cuantitativo como posibles biomarcadores de tolerancia a la falta de agua en patrones (Bielsa et al., 2016).

Los genes identificados mediante técnicas transcriptómicas como la hibridación de micromatrices y el RNA-seq pueden ser considerados como candidatos para la mejora de la tolerancia al estrés hídrico mediante aproximaciones biotecnológicas. La técnica RNA-Seq se ha empleado con éxito para el análisis de expresión génica diferencial a escala genómica en hojas y raíces de plantas del patrón GF677 sometidas a estrés hídrico, ofreciendo nuevas claves sobre la regulación de la respuesta al estrés (Ksouri et al., 2016). Por otro lado, el análisis transcriptómico de yemas latentes de melocotonero también ha dado lugar a la identificación de posibles genes de tolerancia al estrés ambiental (Leida et al 2012b; Lloret et al., 2017). En particular, el gen *PpSAP1* que codifica una “Stress-Associated Protein” (SAP) expresada en yema latente disminuye la pérdida de agua en condiciones de desecación mediante sobreexpresión en ciruelo transgénico (Lloret et al., 2017b). Así mismo, la secuenciación masiva de las especies de miRNA presentes en hoja y raíz de melocotonero sometido a estrés hídrico ha mejorado nuestro conocimiento sobre la regulación de los procesos de tolerancia mediante RNA no codificante en esta especie (Eldem et al., 2012). Un estudio posterior ha confirmado la síntesis diferencial de miRNAs bajo estrés hídrico, a través de la comparación de genotipos de melocotonero, almendro y el cruce interespecífico entre melocotonero y almendro ‘GN 15’ (Esmaeili et al., 2017).

5.4. RECURSOS FITOGENÉTICOS Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS PARA SU USO EN MEJORA

En relación a las necesidades en frío invernal, el melocotonero sea posiblemente el frutal que mayor diversidad fenotípica presenta, lo que le permite a diferencia de otras especies ser cultivado en amplias zonas del planeta con notables diferencias climáticas situadas entre las latitudes 30° y 45° norte y sur, siendo los fríos invernales y primaverales el factor limitante en otras latitudes (Scorza and Sherman, 1996). Existe un mutante ‘Evergreen’, controlado por un único gen ‘*evg*’ homocigótico y re-



cesivo, encontrado en genotipos de México, cuyas yemas vegetativas terminales no cesan su crecimiento, salvo cuando mueren por efecto de las bajas temperaturas. (Rodríguez et al. 1994).

Por otra parte, la salida del letargo invernal es un proceso complementario mediante la acción del frío y el calor (Dennis Jr. 2003), el melocotonero presenta el interés de tener variedades con similar exigencia en frío y diferentes necesidades en calor, lo que les permite ser cultivadas en zonas con poco frío invernal y alto riesgo de heladas primaverales.

Para mejorar la utilidad de estas ventajas adaptativa y facilitar el conocimiento sobre el uso de los recursos genéticos disponibles, en la Tabla 1 se muestra la agrupación del germoplasma de melocotonero por necesidades en frío invernal según el modelo 'Utah' (C.U., 'chill units', Richardson et al, 1974). En la actualidad, en las condiciones climáticas del sur de España, se necesitan aproximadamente entre 15 y 20 días para pasar de un grupo varietal a otro.

Tabla1. Agrupación de las variedades de melocotonero según sus exigencias en frío invernal. (C.U. unidades frío, modelo 'Utah', Richardson et al., 1974).

Grupo de exigencia	Necesidades frío (C.U.)	Denominación
GE1	Menores de 250	Muy Bajas. (VLC)
GE2	250 - 500	Bajas (LC)
GE3	500 - 750	Medio Bajas (ML)
GE4	750 - 1.000	Medias (M)
GE5	1000 - 1250	Medio Altas (MH)
GE6	1250 - 1500	Altas (H)
GE7	Superiores a 1.500	Muy alta (VH)

Liu et al. (2012) consideran a la zona de China comprendida por el Este del Tíbet, oeste de la provincia de Sichuan y el noroeste de la de Yunnan, como el principal centro del origen del melocotonero. En el siglo II fue introducido en Persia desde Gansu, provincia de Xinjiang a lo largo de la ruta de la seda y posteriormente extendido por el área mediterránea. Desde España y Portugal en el siglo XVI, los exploradores españoles y portugueses llevaron el material vegetal a América central y Sudamérica que ha servido de fuente para el desarrollo en aquellas zonas de variedades de melocotonero de bajas exigencias en frío (Topp et al. 2008). La mayoría de las zonas de origen del melocotonero en China son frías, por lo que las necesidades en frío de sus variedades son elevadas. Así en un estudio con 304 cultivares de origen chino de diferentes bancos de germoplasma, muchas de ellos presentaron elevadas necesidades de frío, entre 750 y 950 horas frío (< 7C) (Liu et al. 2012).



Los recursos genéticos chinos poco exigentes en frío invernal encuadrados en los grupos 1 a 3 de la Tabla 1, conocidos en las áreas del sur de China como tipo ‘miel’ (honey) y ‘chatos’ (pentao), donde están bien adaptados a condiciones climáticas subtropicales, sirvieron de base genética para las primeras obtenciones “low chill” (“LC”) en el sur de California (Cullinan, 1937). En los inicios del siglo XX en la zona fría transicional de California: USDA, Palo Alto, Armstrong Chaffey junior College y en la Universidad de California en Riverside se iniciaron los primeros programas de mejora “LC” (Byrne, 2005), con materiales originales de Yunnan (China) (Liu et al. 2012). A finales de los años cuarenta e inicios de los cincuenta, comenzó la mejora “LC” en la universidad de Florida (EEUU) y en Brasil en Sao Paulo y Pelotas. Los programas brasileños usaron mayoritariamente sus materiales autóctonos seleccionados a lo largo del tiempo desde la introducción del melocotonero por los portugueses (Topp et al. 2008). Posteriormente y hasta fechas recientes, las variedades ‘LC’ de Estados Unidos de América, se obtuvieron en programas públicos de Florida (Universidad), Georgia (USDA) y California (además de programas privados), basados en germoplasma de otros programas de materiales autóctonos de Sudamérica, principalmente Brasil (Raseira et al. 1992) y México (Pérez, et al. 1993), que además de aportar bajas exigencias en frío invernal, se beneficiaron con la elevada calidad organoléptica de los frutos autóctonos mexicanos y brasileños (Byrne, 2005).

Actualmente, la mayoría de los recursos genéticos “LC” disponibles son variedades comerciales, procedentes de programas de mejora situados en las principales áreas cálidas productoras mundiales o algunas variedades libres de áreas cálidas de Brasil (Raseira et al. 1992), México (Pérez, et al. 1993) o las Islas Canarias (Rodríguez, J., p.c. 2012), zonas donde todavía se pueden encontrar en cultivo comercial melocotoneros sin injertar o “seedlings”. En las condiciones ambientales del sureste español, las variedades libres “LC” de México, Brasil o Islas Canarias, cultivadas junto a las variedades comerciales o chinas “LC” presentan mayor tolerancia (en algún caso muy alta) a enfermedades.

La mayoría de especies silvestres potencialmente interesantes en la mejora genética del melocotonero (con quien son interfértiles) están presentes en las regiones del norte, oeste, centro y este de China, áreas con abundante frío invernal, por lo que estas especies no pueden ser usadas de forma inmediata en la obtención de descendencia de medias y bajas necesidades. *Prunus mira* Koehne, está ampliamente extendida en el Tíbet, principalmente en las llanuras situadas a 3000 m de altitud, donde es muy tolerante a la sequía. *Prunus kansuensis* Rehd, se distribuye entre las latitudes norte



32° 40' y 36° 50', desde los 600 a 2000 m de altitud, tiene raíz roja muy resistente a los nemátodos, así como al frío y a la sequía (Liu et al. 2012), *Prunus davidiana* Franch, es resistente al frío, sequía, salinidad- alcalinidad y pulgón verde, pero no al encharcamiento, y se cruza fácilmente con el melocotonero, pero da una descendencia de fruta de muy baja calidad (Liu et al. 2012). *Prunus potaninii* Batal (Liu et al., 2012, Xiong-wei et al. 2013) y *Prunus ferganensis* (Wang, 1985) son usados como patrones por su resistencia a la sequía. Fuera de estas regiones, otras especies silvestres con las que el melocotonero se puede hibridar aportando menores exigencias en frío invernal, como *Prunus cerasifera* Ehrh, o *Prunus salicina* Lindl, etc., presentan la limitación al producir híbridos estériles (Scorza and Okie, 1991).

6. Ciruelo

6.1. INTRODUCCIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

Dentro del género *Prunus*, los ciruelos son los más diversos taxonómicamente, comprendiendo alrededor de 40 especies que engloban más de 6.000 variedades, adaptadas a un amplio rango de condiciones climáticas y edáficas (Ramming y Cociu, 1991; Blazek, 2007). Dentro de esta gran diversidad, las principales variedades cultivadas de ciruelos pertenecen a dos especies principales, el ciruelo Europeo (*Prunus domestica* L.) (hexaploide) y el ciruelo Japonés y sus híbridos (*Prunus salicina* Lindl.) en su mayoría diploides.

La producción de ciruelas a nivel mundial se concentra principalmente en Asia (67%), Europa (22%) y América (8%). Los principales países productores son China, (unas 6.660.000 t, más de la mitad de la producción mundial), Rumanía, Serbia, Estados Unidos, Turquía, Chile, Irán, India, España, Italia y Francia (FAOSTAT, 2018). En 2016, en España se produjeron 222.000 t de ciruelas en una superficie de 16.300 ha, situándose como segundo país productor de la Unión Europea con cerca del 15 % de la producción. Los principales países exportadores de ciruela fresca son Chile, España, Sudáfrica, Estados Unidos e Italia. En los últimos años, España ha exportado más de 90.000 t de media por un valor de más de 120 millones de dólares, principalmente a países de la Unión Europea (>50.000 t) como Reino Unido, Alemania, Portugal, Francia e Italia aunque también destacan las exportaciones a Brasil con más de 11.000 t (FAOSTAT, 2018). Estos datos se refieren a ciruelo europeo y ciruelo japonés conjuntamente, ya que no existen estadísticas oficiales de cada especie de ciruelo por separado. El cultivo del ciruelo está aumen-

tando a nivel mundial, con un incremento de su superficie de un 15% en los últimos 10 años (de 2.304.118 a 2.651.122 ha), aunque existen diferencias entre continentes; aumenta la superficie cultivada en Asia y África, se mantiene en Europa y Sudamérica, y disminuye en Norteamérica.

En España se estima que el ciruelo japonés ocupa más del 65 % de la superficie destinada al ciruelo, siendo el resto ciruelo europeo, principalmente del grupo de las 'Reina Claudia' (Rodrigo y Guerra, 2014). La importancia de la producción española de ciruela se debe principalmente a la buena adaptación de las variedades de ciruelo japonés a nuestras condiciones climáticas. Un aspecto muy destacable es la posibilidad del cultivo de variedades precoces, que permiten producciones en mayo y junio, evitando en gran medida la competencia en los mercados europeos, con las consiguientes ventajas económicas que ello conlleva. Aproximadamente la mitad de la producción (48%) se concentra en Extremadura con 92.700 t en 2016 en 6.508 ha, principalmente ciruelas de tipo japonés. Otras CCAA productoras de ciruelas son Andalucía (39.876 t (21%) en 2.382 ha) y Región de Murcia (21.227 t (11%) en 928 ha), donde también se cultivan principalmente variedades de tipo japonés, Aragón (9.337 t (5%) en 1.094 ha), y Galicia (8.849 t (5%) en 623 ha), donde también se cultivan ciruelas de tipo europeo. El destino principal de la producción nacional es el consumo en fresco, destinándose entre el 5 y el 10% para la elaboración de mermeladas y ciruelas de secado (MAPAMA, 2018).

El futuro del ciruelo en España presenta diferentes perspectivas dependiendo de CCAA. La tendencia en los últimos 10 años es un descenso de superficie cultivada a nivel nacional, (de 21.000 a 16.344 ha), pero con importantes diferencias entre CCAA. Mientras Extremadura aumenta en producción y área cultivada, en Andalucía, Aragón, Región de Murcia y Comunidad Valenciana la superficie está disminuyendo (MAPAMA, 2018).

La estructura varietal también difiere entre las dos especies. En ciruelo europeo, la estructura varietal se mantiene sin cambios significativos, centrándose en variedades tradicionales, principalmente en el grupo de las 'Reina Claudia', destacando la variedad 'Reina Claudia Verde', que por su calidad alcanza precios más altos que el resto de variedades. En Ciruelo japonés se está produciendo una importante renovación varietal por la intensa actividad de los programas de mejora. Se introducen nuevas variedades de diferentes países, muchas de las cuales presentan características interesantes y pueden ampliar el calendario actual de maduración en España (Guerra y Rodrigo, 2017). También destaca la creciente presencia de híbridos de ciruelo japonés



y albaricoquero, que han dado como resultado nuevas frutas muy interesantes para el mercado nacional e internacional como plumcots, pluots o apriums. A pesar de que los primeros híbridos se obtuvieron hace décadas, es ahora cuando están empezando a tener importancia comercial.

6.2. OBJETIVOS DE MEJORA

Los objetivos de los diferentes programas de mejora del ciruelo que se desarrollan a nivel mundial están condicionados por factores tales como el uso final de la ciruela, las condiciones climáticas y las necesidades específicas de las áreas de cultivo. Las ciruelas de tipo japonés se utilizan principalmente para el consumo en fresco, siendo cada vez más estudiadas y consideradas sus características nutraceuticas por el carácter antioxidante de determinadas variedades (Fanning et al., 2014). Las ciruelas europeas presentan distintos usos para industria además del consumo en fresco, como enlatadas, deshidratadas, procesadas para cocinar o destiladas en brandy (Ramming y Cociu, 1991). Ello condiciona los objetivos de mejora y los criterios de selección de cada especie.

La adaptación a las condiciones climáticas donde se van a cultivar las nuevas variedades es uno de los objetivos prioritarios de su mejora. La baja acumulación de frío en áreas cálidas y el riesgo de heladas en áreas frías determinan los objetivos de mejora. En general, las variedades de ciruelo Europeo se caracterizan por elevadas necesidades de frío y están adaptadas a climas templados fríos, mientras que las especies de ciruelo Japonés se cultivan principalmente en regiones más cálidas debido a sus menores requerimientos de frío. La mayoría de los programas de mejora de ciruelo europeo desarrollados en Europa Central y Oriental (Alemania, Serbia, Rumania, Bulgaria, Bosnia y Herzegovina y Polonia), Federación Rusa, Ucrania, Canadá y Norte de Estados Unidos consideran la resistencia a las heladas y la floración tardía como objetivos prioritarios (Topp et al., 2012; Rodrigo y Guerra, 2014). En el caso del ciruelo japonés, la satisfacción de las necesidades de frío es un factor clave para garantizar un comportamiento vegetativo y productivo adecuado en áreas cálidas donde la acumulación de frío es escasa. En estas condiciones, las bajas necesidades de frío de las variedades es uno de los principales objetivos de los programas de mejora, como el caso de los desarrollados en Sudáfrica, Australia, Brasil, Chile y Florida y California en EEUU (Sherman et al., 1992; Topp et al., 2012; Rodrigo y Guerra, 2014), así como el reciente programa de mejora desarrollado en Murcia, España (Ruiz et al., 2015). En este contexto, los nuevos escenarios climáticos previstos por efecto del cambio climático deben ser considerados a corto, medio y largo plazo.

Otros objetivos considerados en los programas de mejora del ciruelo son los siguientes:

- Productividad. Una producción elevada y regular depende de factores tales como la adaptación climática, factores genéticos y ambientales, factores de biología floral y manejo agronómico. La mayoría de ciruelas japonesas y algunas europeas son autoincompatibles (Guerra et al., 2009). La autocompatibilidad floral es un factor clave para garantizar un nivel adecuado de productividad, y por tanto debe ser un objetivo básico.
- Ampliación del calendario productivo. Es un objetivo importante, especialmente para la ciruela japonesa en áreas cálidas de países como Sudáfrica, Australia, España y Estados Unidos, donde algunas variedades podrían ser recolectadas entre mayo y junio. También la obtención de variedades extratardías (septiembre, octubre) tiene un gran valor para ampliar la oferta en el calendario.
- Calidad del fruto. Los objetivos de mejora dependen del uso final (consumo en fresco, secado o procesado). Para ciruelas a consumir en fresco, el calibre, firmeza, el color atractivo y la calidad organoléptica (sabor, aroma, jugosidad) son los factores más importantes a considerar en los programas de mejora. Ciruelas con una elevada coloración son cada vez más demandadas, de piel roja, violácea o negra, y pulpa rojo intenso, que además está asociado a un elevado contenido de compuestos antioxidantes, beneficiosos para la salud.
- Buena aptitud poscosecha, fundamental para la exportación a mercados internacionales.
- Resistencia a plagas y enfermedades. Los esfuerzos de mejora se centran en las cinco principales enfermedades que afectan al ciruelo: la enfermedad de la sharka causada por plum pox virus (PPV); podredumbre marrón, causada por el hongo *Monilinia* spp.; chancro bacteriano causado por *Pseudomonas syringae* van Hall; mancha bacteriana causada por *Xanthomonas campestris* pv. *Pruni*; y escaldadura de la hoja del ciruelo, causada por la bacteria *Xylella fastidiosa*.

6.3. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEJORA GENÉTICA

La secuenciación y ensamblaje del genoma de *Prunus domestica* está en curso y en *Prunus salicina* están disponibles los primeros datos del transcriptoma (Jo et al., 2015). Muy recientemente, la tecnología de genotipado por secuenciación (“*genoty-*

ping by sequencing”, GBS) ha permitido generar 2 mapas genéticos de ciruelo Japonés saturados con 981 SNPs, y el análisis de QTLs ha permitido identificar algunas regiones del genoma ligadas a caracteres de interés tales como fecha de maduración, color de piel de fruto, índice de degradación de la clorofila y peso del fruto (Salazar et al., 2017). Este es el paso previo al desarrollo de marcadores moleculares específicos para su utilización en mejora asistida en los programas de mejora.

En ciruelo europeo todavía no se dispone de marcadores moleculares para selección asistida, por ejemplo para resistencia a sharka, que puedan aplicarse en programas de mejora genética, debido a la hexaploidía de esta especie. Únicamente los marcadores tipo microsatélites (SSRs) se han aplicado con éxito para la identificación molecular (“*fingerprinting*”) de genotipos de ciruelo Europeo (Decroocq et al., 2004). Sin embargo, *Prunus domestica* se ha propuesto como un sistema modelo para la genómica funcional en *Rosaceae* (Petri et al., 2008).

En el caso de ciruelo Japonés, se utiliza de forma rutinaria marcadores moleculares para la identificación de alelos-S de compatibilidad, que ha permitido describir 42 alelos de S-RNasa y 15 alelos de SFB, y establecer 26 grupos de incompatibilidad en este cultivo (Guerra y Rodrigo, 2015).

6.4. RECURSOS FITOGENÉTICOS Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS PARA SU USO EN MEJORA

Los ciruelos japoneses originales y de línea pura se agrupan dentro de la denominación *P. salicina* Lindl., de los que se conservan algunas variedades como ‘Kelsey’ o ‘Abundance’, que fueron utilizadas en los primeros cruzamientos de mejora realizados por L. Burbank a finales del siglo XIX. Sin embargo, las variedades actuales son híbridos complejos de *P. salicina* con distintas especies de ciruelos diploides como *P. simoni* Carriere, *P. americana* Marshall, *P. nigra* Aiton, *P. besseyi* Bailey *P. angustifolia* Marshall, *P. munsoniana* W. Wight and Hedrick, *P. hortulana* L.H. Bailey, *P. mexicana*, *P. spinosa*, *P. ussuriensis*, *P. gymnodonta*, *P. umbelata* Elliott, *P. maritima* Marshall o *P. geniculata* (Burbank, 1914; Hedrick, 1911; Okie y Handcock, 2008).

En ciruelo japonés se está produciendo una incesante renovación varietal en los últimos años. En el periodo 1995-2016 se inscribieron en la CPVO (*Community Plant Variety Office*) 113 nuevas variedades de ciruelo japonés y 49 variedades de ciruelo europeo, si bien un estudio realizado por Fideguelli y Della Strada (2009) registra 509 nuevas variedades de ciruelo japonés y 273 variedades de ciruelo europeo en el periodo 1980–2008. En los listados *Brooks and Olmo* de la última década y recogidos

en HortScience (2006-2016) se han descrito 16 variedades europeas, 1 ciruelo ornamental, 72 híbridos y 44 ciruelos japoneses.

Las nuevas variedades presentan características interesantes en diferentes aspectos y pueden suponer una ampliación del calendario actual de maduración a nivel nacional, lo cual puede permitir la diversificación del cultivo y la apertura de nuevas vías de comercialización (Rodrigo y Guerra, 2014). Sin embargo, se desconoce el comportamiento agronómico de muchas de ellas fuera de sus países de origen, por lo que es necesario realizar ensayos en cada zona de cultivo para determinar su grado de adaptación y su comportamiento en las nuevas condiciones. Las nuevas variedades introducidas en los últimos años, dependiendo del programa de mejora, presentan caracteres de adaptabilidad concretos en relación a la climatología de su zona de obtención. Así, por ejemplo en relación a las necesidades de frío para la salida del letargo, existe un abanico amplio de necesidades que oscilan desde 200 horas frío ('Red Beaut') hasta 1000 horas frío ('Bella Zee') (Guerra y Rodrigo, 2015), lo cual genera un amplio rango de áreas potenciales para su cultivo a nivel nacional.

La especie ciruelo japonés aglutina gran diversidad genética resultado de cruza-mientos entre distintas especies de ciruelos diploides, que ponen a disposición del mercado un elevado número de variedades de ciruelo con distintas tipologías y características. En los últimos años, también se está realizando esfuerzos en la obtención de híbridos interespecíficos, que aportan nuevas tipologías de frutas, procedentes de cruzamientos con otras especies próximas, especialmente albaricoquero (plumcots), pero también con cerezo o melocotonero.

Los plumcots ya se mencionaban en 1911 en el libro de Hedrick "The plums of New York" donde hacía referencia a híbridos entre *P. triflora* y *P. armeniaca* obtenidos por Burbank en 1909 que él mismo describía como "una fruta completamente nueva que promete grandes cosas para las localidades donde se pueda cultivar". En la actualidad varios programas de mejora utilizan diferentes frutales del género *Prunus* para obtener lo que se registra como "plum hybrids."

7. Albaricoquero

7.1. INTRODUCCIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

La mayoría de los albaricoqueros cultivados pertenecen a la especie *Prunus armeniaca*, que se cultiva comercialmente en todo el mundo (Mehlenbacher et al. 1991; Faust y col. 1998). El albaricoquero es el tercer frutal de hueso en importancia tras melo-



cotonero y ciruelo, con una producción mundial de 3.881.204 toneladas (FAOSTAT, 2016). La especie albaricoquero se cultiva en todo el mundo, pero la mayor parte de la producción se concentra en el área mediterránea. Los principales productores de albaricoques son Turquía, Uzbekistán, Irán y Argelia, si bien esta producción está destinada casi en su totalidad al mercado de albaricoque seco. La segunda zona importante productora incluye los países europeos que bordean el mar Mediterráneo, principalmente Italia, España, Francia y Grecia, donde la producción se destina al mercado en fresco (FAOSTAT, 2016). En España la superficie cultivada de albaricoquero se sitúa en torno a las 25.000 hectáreas, con una producción de 154.000 toneladas (MAPAMA, 2016), siendo el primer exportador mundial de albaricoque en fresco. La producción nacional se concentra principalmente en la Región de Murcia, que aglutina el 60% de la producción (93.000 toneladas), Aragón, Comunidad Valenciana y Castilla La Mancha, y en menor medida Cataluña, Extremadura y Andalucía.

Una parte importante del cultivo en Murcia y Comunidad Valenciana está situado en áreas cálidas de inviernos muy suaves, donde frecuentemente la acumulación de frío invernal es insuficiente incluso para satisfacer las necesidades de las variedades de floración más precoz. El cambio climático tiende al calentamiento atmosférico por el aumento de las temperaturas. En estas condiciones, las variedades que resultan más afectadas por el cambio climático son las localizadas en áreas límite para la satisfacción de sus necesidades de frío invernal, cultivadas en esas zonas buscando una maduración más precoz. Al aumentar las temperaturas será más frecuente que no satisfagan sus necesidades, con el consiguiente perjuicio para su adaptación, productividad e incluso para su precocidad. Si se quiere seguir cultivando estas variedades, será preciso establecerlas en zonas más frías, zonas que según avance el cambio climático adquirirán características similares a las que hoy albergan este cultivo. Por otra parte, para seguir cultivando esta especie en las áreas tradicionalmente precoces, cuyos agricultores ya tienen experiencia en el manejo del cultivo, será necesario obtener mediante mejora genética, nuevas variedades de calidad, con menores necesidades de frío invernal que las actualmente cultivadas, tarea difícil en albaricoquero, debido a la escasez de recursos genéticos de bajas necesidades de frío invernal. El desarrollo de bioestimulantes eficientes y autorizados para la ruptura del letargo invernal, es una segunda vía de interés para abordar el problema.

Las perspectivas de futuro en España parecen favorables ya que la demanda y las exportaciones han ido creciendo consistentemente en los últimos años. Los precios han sido remuneradores en prácticamente todas las fechas de recolección, aunque especialmente en las de más precoces ya que en esa época es mínima la competencia

de otros países. Como contrapartida a los buenos resultados económicos de las variedades de maduración temprana, existe el riesgo de la excesiva concentración de esta producción, ya que habría que acompañar el ritmo de crecimiento de la oferta al de la demanda. Los efectos beneficiosos para la salud del consumo de frutas, particularmente del albaricoque, la creciente demanda de albaricoque troceado para industria en alimentos tales como yogures, y las posibilidades de aumento del consumo nacional, son factores positivos para su cultivo.

Una parte muy importante de la producción de albaricoque en España es de maduración precoz o muy precoz. Ello permite llegar a los mercados en una época en que países competidores, por razones climáticas, no pueden acceder, propiciando la obtención de mejores precios de venta. Esta producción precoz requiere inviernos muy suaves y variedades de muy bajas necesidades de frío invernal. El cambio climático va a determinar un incremento de las temperaturas que conllevará una menor acumulación de frío invernal, lo que dificultará la satisfacción de las necesidades de frío de las variedades precoces hoy cultivadas, que se han situado en áreas límite buscando precocidad. En estos nuevos escenarios climáticos, las actuales variedades precoces será preciso implantarlas en áreas más frías que con el cambio climático pasarán a ser adecuadas para obtener precocidad.

Por su parte, en las áreas cálidas donde se ha desarrollado tradicionalmente el cultivo del albaricoquero, con una larga experiencia de manejo del mismo y que ha sido un componente importante de su economía, es pertinente tratar de propiciar su continuidad, aunque para ello es imprescindible obtener nuevas variedades con menores necesidades de frío y también optimizar la utilización de bioestimulantes para activar la salida del reposo y ayudar a la satisfacción de las necesidades de frío invernal.

7.2. OBJETIVOS DE MEJORA

El albaricoquero es la segunda especie de frutales de hueso con un mayor grado de innovación varietal, tras el melocotonero. Durante el periodo 1995-2016 la Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales (OCVV) recibió 272 solicitudes de registro de nuevas variedades. España, Francia, Italia, EEUU, China y República Checa son los países que más han contribuido a la introducción de nuevas variedades.

Los objetivos de mejora del albaricoquero son múltiples. Sin embargo, en el actual contexto de cambio climático el objetivo más importante es el relativo a la obtención de variedades de calidad y de menores necesidades de frío que las actualmente cultivadas. Esto es un reto debido a la notable escasez de material vegetal de la especie con



muy bajas necesidades de frío invernal. Sin embargo, para avanzar en esa dirección, se pueden seguir diferentes estrategias de mejora:

- Cruzamientos entre variedades élite de muy bajas necesidades de frío. Las recombinaciones dan lugar frecuentemente a un pequeño porcentaje de descendientes con menores necesidades de frío que el parental más precoz. Como los parentales aúnan ya numerosos caracteres valiosos, la probabilidad de que alguno de esos descendientes sea interesante es elevada.
- La búsqueda y localización de mutantes en las áreas de producción de albaricóquero con inviernos suaves. Pueden ser valiosos para utilizar como parentales.
- Prospección en centros primarios o secundarios de origen de la especie de materiales con la máxima precocidad de floración, y por tanto bajas necesidades de frío, que serían de gran utilidad a pesar de que en general tendrían menos caracteres de interés acumulados.

Otros objetivos prioritarios contemplados en los diferentes programas de mejora de la especie son los siguientes:

- Resistencia al virus de la sharka (PPV). Actualmente una proporción muy escasa de las variedades cultivadas posee este carácter, a pesar de que en muchas de las áreas tradicionales del cultivo sigue habiendo una presión importante del virus que da lugar a importantes pérdidas de árboles.
- Autocompatibilidad floral. La autoincompatibilidad de muchas variedades, especialmente las precoces, sigue ocasionando grandes problemas productivos. Es preciso resolver esta carencia y para ello hay suficiente material de base para enfrentarla con éxito.
- Ampliación del calendario productivo. Además de la obtención de variedades de bajas necesidades de frío y maduración temprana, ampliar el calendario de maduración con variedades de maduración tardía y extratardía que aúnen calidad del fruto, la resistencia a sharka y la autocompatibilidad, es también un objetivo de interés.
- Elevada calidad del fruto, en lo relativo a calibre, firmeza, calidad gustativa y aspecto atractivo con mucha coloración. Existe una creciente demanda de frutos de piel y pulpa naranja y chapa roja.
- Buen comportamiento poscosecha, que garantice la manipulación y la conservación, especialmente considerando que gran parte de la producción es destinada a la exportación a mercados internacionales.

7.3. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEJORA GENÉTICA

La Genome Database for Rosaceae (GDR, www.rosaceae.org) tiene disponibles 13 mapas de ligamiento para *Prunus armeniaca*. Además, se enumeran las secuencias de 166 genes de albaricoquero. Hasta la fecha, en estos mapas genéticos han sido identificados diferentes genes y QTLs que controlan caracteres tales como autocompatibilidad floral, androesterilidad, resistencia a sharka, necesidades de frío invernal o caracteres de la calidad del fruto (Vilanova et al., 2005; Olukolu et al., 2009; Ruiz et al., 2010; Campoy et al., 2011a, 2011b; Salazar et al., 2013). Los esfuerzos más recientes se están orientando a la elaboración de mapas físicos que pueden ser el comienzo para la secuenciación completa de su genoma.

En los últimos años, varios grupos de investigación están trabajando en el desarrollo de marcadores moleculares ligados a caracteres agronómicos de interés, para su utilización en selección asistida ("Marker assisted selection", MAS) en los diferentes programas de mejora de la especie. En albaricoquero, los mayores logros se han conseguido para resistencia a sharka y compatibilidad floral. En el caso de resistencia a sharka, una vez identificada la región del genoma asociada a la resistencia (locus PPVres), se saturó dicha región con marcadores tipo SSRsco-dominantes y se identificaron aquellos que co-segregaban con la resistencia a PPV, encontrándose una estrecha relación entre los SSR PGS1.21 y PGS1.24, y la resistencia al PPV (Soriano et al., 2012), aunque en algunos genotipos no se observó esta relación. Sin embargo, en todos los casos los genotipos susceptibles no mostraron los alelos de resistencia. Por lo tanto, MAS podría usarse como estrategia para eliminar aquellos genotipos que son susceptibles (Rubio et al., 2014).

Otra aplicación importante de marcadores moleculares para selección asistida en albaricoquero es la identificación de los alelos de compatibilidad. Se dispone de cebadores de PCR específicos de los alelos-S de compatibilidad (Vilanova et al., 2005). Esta técnica de PCR se utiliza de forma rutinaria en los programas de mejora para la identificación de alelos de compatibilidad en las variedades actuales y para la selección asistida de genotipos autocompatibles en nuevas progenies de albaricoquero.

7.4. RECURSOS FITOGENÉTICOS Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS PARA SU USO EN MEJORA

La sección *Armeniaca* incluye ocho especies diferentes, incluidas *P. ansu* y *P. holosteric*a (de las zonas del norte de China y caracterizadas por su resistencia a las heladas), *P. mume* (de las zonas húmedas de China y caracterizada por su resistencia a enferme-



dades fúngicas), y *P. sibirica* y *P. manshurica* (del norte de China y caracterizadas por su resistencia a las bajas temperaturas), como las especies más relacionadas con el albaricoquero (Bailey y Hough, 1975; Mehlenbacher et al. 1991; Lichou y Audubert, 1989). Estas especies cercanas al albaricoquero son escasamente cultivadas, y su utilización en los programas de mejora es muy limitada.

En la especie albaricoquero, la obtención de nuevas variedades de bajas necesidades de frío, si bien es un objetivo fundamental en los programas de mejora, tiene una gran dificultad al ser muy escasos los recursos genéticos de bajas necesidades de frío en esta especie para ser utilizados como parentales. El rango de necesidades de frío de la mayoría de las variedades cultivadas oscila entre 700-1200 chill units (CU), con algunos casos extremos de 500 CU y superiores a 1300 CU (Guerrero et al., 2002; Ruiz et al., 2007). Esta situación difiere de otras especies de *Prunus*, especialmente el caso del melocotonero, donde los procesos de mejora han conseguido variedades de extra-bajas necesidades de frío, inferiores a 100 CU (Byrne et al., 2000), que pueden adaptarse perfectamente a zonas de muy escasa acumulación de frío. Así pues, en el caso del albaricoquero, deben continuarse los esfuerzos en la prospección de nuevos materiales silvestres y también mutaciones, caracterizados por muy bajas necesidades de frío para introducirlos como parentales en los programas de mejora.

8. Cerezo

8.1. INTRODUCCIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

La producción mundial de cerezas está aumentando en los últimos años, superando 2.300.000 t en 2016. Se distribuye principalmente entre Asia (48%), Europa (31%), Norteamérica (13%) y Sudamérica (6%). Los principales países productores son Turquía (599.000 t), Estados Unidos (288.000 t), Irán (220.000 t), Chile (123.000 t), Uzbekistán (95.000 t), Italia (94.000 t) y España (94.000 t) (FAOSTAT, 2018). En España se cultivan 25.000 ha de cerezos, siendo el primer país productor de la Unión Europea junto a Italia, con cerca del 18% de la producción. Los principales países exportadores de cerezas son Estados Unidos, Turquía, Chile y España (FAOSTAT, 2018). En los últimos años, España ha exportado más de 24.000 t de media por un valor de más de 70 millones de dólares, principalmente a países de la Unión Europea como Reino Unido (21%), Alemania (14%), Italia (13%), Francia (12%) y Holanda (10%) (FAOSTAT, 2018).

En España, la superficie cultivada se ha estabilizado en los últimos 10 años en unas 25.000 ha, después de sufrir un importante descenso en los años anteriores. En 2016, más de la mitad de la producción nacional se concentró en Aragón (38.700 t (39 %) en 7.900 ha) y Extremadura (25.900 t (26%) en 7.400 ha) (MAPAMA, 2018). Otras CCAA productoras de cerezas son Cataluña (8.000 t (8%) en 2.700 ha), Andalucía (6.200 t (6%) en 2.200 ha) y Comunidad Valenciana (5.900 t (6%) en 2.900 ha). La producción en España se destina principalmente al consumo en fresco, con cerca del 10 % dedicada a industria, principalmente en zonas de Zaragoza y Jaén. Más de la mitad de la superficie (unas 15.000 ha) se cultivan en secano (MAPAMA, 2018). Aunque la mayor parte de la producción se destina al mercado interior, las exportaciones están aumentando en los últimos años hasta alcanzar aproximadamente el 25 %. También están aumentando las importaciones de países del hemisferio Sur, principalmente Chile (500 t) y Argentina (190 t) (FAOSTAT, 2018).

Para el consumo en fresco el consumidor prefiere cerezas de buen sabor, gran tamaño y aspecto atractivo, en el que el color rojo oscuro, granate o púrpura se valora especialmente. Las variedades de fruto firme son muy apreciadas, y además resisten mejor el transporte y la manipulación tras la cosecha. Para exportación se destinan preferentemente variedades de fruto de gran calibre y muy firme. El consumidor nacional también aprecia las variedades tipo picota, en las que el pedúnculo se desprende sin provocar heridas en el fruto, con la ventaja adicional de estas variedades de reducir considerablemente los gastos de recolección (Rodrigo y Guerra, 2014).

Las perspectivas de futuro del cerezo a nivel nacional son buenas. Por un lado, es de las pocas frutas cuyo consumo nacional se mantiene o aumenta, lo que hace que su cultivo no sea tan dependiente del mercado exterior. Por otro lado, se alcanzan buenos precios y hay margen para aumentar la cantidad de cerezas destinadas a la exportación. En los últimos años también se está incrementando notablemente la introducción de nuevas variedades, lo que está ampliando considerablemente la oferta de variedades de calidad en todas las épocas de maduración (Iglesias et al., 2016c) y la introducción de un número creciente de variedades autocompatibles que no necesitan polinización cruzada (Fadón et al., 2017). Esto está provocando un alargamiento del periodo de recolección y por tanto la presencia de cerezas durante más tiempo en el mercado. Destaca la expansión a nuevas zonas de producción; se están introduciendo nuevas variedades de cerezo de bajas necesidades de frío en zonas más cálidas que las tradicionales para la recolección en abril, y variedades de maduración tardía en zonas de montaña para la producción de cerezas a finales de julio o principios de agosto (Rodrigo et al., 2016).



8.2. OBJETIVOS DE MEJORA

El cerezo (*Prunus avium* L.) es una especie con una base genética muy reducida (Choi y Kappel, 2004). La historia de la mejora genética es muy reciente, remontándose a no más de doscientos años (Hedrick et al., 1915). Una característica de este proceso ha sido que se han utilizado un número muy reducido de progenitores, muy especialmente para la autocompatibilidad (Choi y Kappel, 2004) y en consecuencia, actualmente la endogamia media entre las variedades autocompatibles de cerezo es comparable a una relación entre ellas de medio – hermanos (Choi y Kappel, 2004).

Existen programas de mejora genética en varios países de Europa, Rusia, Canadá, USA, China, Japón y Australia, que han aportado en los últimos años más de 140 nuevas variedades, aunque su comportamiento en España no está lo suficientemente contrastado. El total mundial asciende a más de 580 variedades, 450 de cerezo dulce en 26 países, y 130 de cerezo ácido en 17 países. La mayoría de ellas proceden de centros públicos que mantienen un total de 262 variedades, siendo los más importantes La Estación Experimental de Summerland, Canada, el Instituto de Investigación de Holovousy en la República Checa, el Instituto de Investigación Frutícola de Ucrania en Metitopol, el Instituto de Investigación de Dresden en Alemania, el Policultural Instituto de Karski Nuia en Estonia, el Instituto de Investigación en Fruticultura de Budapest en Hungría, las dos instituciones de Italia, Instituto Experimental de Fruticultura de Verona y el departamento de Cultivos Arbóreos de la Universidad de Bolonia y el INRA de Francia. La situación actual en España es de total dependencia de variedades foráneas de las que no se conocía con exactitud el comportamiento en nuestras condiciones climáticas.

Nuestro país es un reservorio de variabilidad genética (Cabrera et al., 2012; Cachi y Wünsch, 2009, 2014; Wünsch y Hormaza, 2004 b,c; Wünsch et al., 2008) y es posible la utilización de este material local como fuente de variabilidad para la introducción de caracteres de interés en la mejora genética. Todo esto, unido al clima tan diferente de España respecto del resto de países, ha impulsado a la creación de dos programas de mejora genética de cerezo, el del Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX-La Orden) y el del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), con unos objetivos definidos y distintos al tratarse de dos regiones con condiciones ambientales diferentes. Así, los objetivos del programa de mejora genética del IMIDA de Murcia van encaminados a la obtención de nuevas variedades que se puedan adaptar a climas cálidos de bajo reposo invernal y precocidad en la maduración, autocompatibles para evitar la utilización de polinizadores, regularidad en la producción, mejor adaptación a los climas desfavorables, que

tengan calidad de fruto con calibres superiores a 30 mm, firmeza de la pulpa, aroma y sabor, color rojo oscuro de la epidermis y con formas cordiformes y reniformes, con ausencia de frutos dobles (objetivo muy importante en Murcia con clima cálido y con elevadas temperaturas en verano durante la diferenciación floral), y que presenten resistencia al rajado del fruto (“cracking”). Por otra parte, los objetivos del programa de mejora del CICYTEX-La Orden en Extremadura se dividen en dos grandes líneas: una cuyo objetivo principal es la obtención de nuevas variedades tipo Picotas que mantengan las características propias de estos cultivares y que, además, mejoren las propiedades agronómicas, tales como el calibre, la entrada en producción, el rendimiento y una buena relación pulpa/hueso. Otra línea es la obtención de nuevas variedades que amplíen el calendario de recolección (principalmente tempranas y muy tardías) con buen comportamiento agronómico y frutos de calidad. Ambas líneas se abordan en colaboración con otros grupos de investigación de “CAMIA-LI” e ICTAN-CSIC se incluyen diferentes estudios como la calidad microbiológica de las cerezas o la aptitud a la conservación frigorífica de los cultivares seleccionados, tolerancia a los gases activos y a las concentraciones óptimas para mejorar su vida útil y resistencia al desarrollo de las principales enfermedades fúngicas durante la poscosecha.

8.3. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEJORA GENÉTICA

La evaluación de nuevas variedades es un factor limitante de cualquier programa de mejora de cerezo, debido principalmente al largo periodo de juvenilidad y que se requiere una gran superficie de cultivo para la evaluación de los descendientes. Por ello, es muy importante utilizar estrategias que permitan acortar y hacer más eficiente este proceso. En este sentido, la mejora del cerezo puede beneficiarse de la selección asistida por marcadores (“Marker Assisted selection” (MAS), siendo los isoenzimas los primeros marcadores moleculares utilizados. Posteriormente, fueron los marcadores basados en ADN que no necesitaban PCR como RFLPs, si bien la mayoría de los trabajos se han basado en marcadores que requieren PCR como RAPDs, AFLPs y SSRs (Balas, F.; 2016). Estos estudios se han centrado básicamente en determinar la diversidad genética y la estructura de las poblaciones de esta especie y algunos trabajos en caracteres como el gen S-Locus de auto-incompatibilidad o resistencia a enfermedades (Wünsch y Hormaza 2004 b,c; Dirlewanger et al. 2009). A partir de estos marcadores se han desarrollado varios mapas genéticos, muy útiles para la localización de genes interesantes que controlan caracteres cuantitativos y cualitativos (Wang et al., 1998; Stockinger et al., 1996; Dirlewanger et al, 2004).



Otros marcadores moleculares introducidos recientemente en estudios de cerezo son los SNPs o polimorfismos en un único nucleótido, que han sido aplicados en trabajos de germoplasma y diversidad (Cabrera et al., 2012), en fitopatología (Jomantiene et al., 2011) y en estudios de ligamiento genético (Wang et al., 2015). El consorcio internacional de Rosáceas RosBREED, desarrolló el primer chip 6K SNP array v1 basado en la tecnología Illumina y que ha sido especialmente útil en estudios de ligamiento genético (Klagges et al., 2016). Estos marcadores SNP han permitido una mayor resolución de los mapas de ligamiento (Klagges et al., 2016; Castède et al., 2014; Campoy et al., 2015) y una mejor detección de loci de caracteres cuantitativos (QTL) (Zhang et al., 2010; Rosyara et al., 2015). En relación a los caracteres de calidad estudiados en cerezo, los trabajos se han centrado principalmente en QTLs de floración y tamaño de fruto, peso y firmeza (Zhang et al., 2010; Cabrera et al., 2012; Castède et al., 2014; Campoy et al., 2015; Rosyara et al., 2013; De Franceschi et al., 2013). En España, destaca el estudio realizado de forma coordinada entre el CITA de Aragón, el CICYTEX de Extremadura y la Universidad de Michigan (USA) en la variedad 'Ambrunés', que ha dado como resultado el primer mapa genético con más de 600 marcadores moleculares de esta variedad y que han permitido identificar para firmeza un QTL mayor que no había sido previamente en el LG1 y confirmó la presencia de otro el QTL en el LG6 que había sido descrito previamente (Balas, 2016).

8.4. RECURSOS FITOGENÉTICOS Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS PARA SU USO EN MEJORA

En relación a los recursos fitogenéticos, el cultivo generalizado de las nuevas variedades obtenidas en los programas de mejora principalmente de EEUU, Francia y Canadá con mejores características productivas y de calidad, ha supuesto el abandono de las variedades locales españolas, con la consiguiente reducción de su diversidad genética. En España, gran parte de estas variedades tradicionales se conservan en el CITA de Aragón, que incluye 110 accesiones entre cultivares locales de diferentes áreas españolas y variedades comerciales. Por otro lado, CICYTEX dispone del Banco de Germoplasma de variedades autóctonas de cerezo del Valle del Jerte con 42 accesiones incluyendo especies de cerezo dulce y ácido, cuya caracterización ha puesto de manifiesto la gran variabilidad existente en este Banco para caracteres de gran interés agronómico como la fecha de maduración, el color de la epidermis y la firmeza de los frutos (Bañuls et al., 2012). Así, alguna de estas variedades como 'Ambrunés', 'Pico negro' o 'Pico colorado' han sido utilizadas en el programa de mejora genética de CICYTEX por su sabor dulce, aptitud al desrabe y fecha de maduración tardía y, otras

como 'Temprana negra' por su resistencia al rajado (López-Corrales, 2014). También, se han establecido las relaciones de similitud e incompatibilidad polen-estilo de estas variedades locales de cerezo, lo que facilita su uso en los programas de mejora (Wünsh et al., 2008; Wünsch y Hormaza, 2004 b,c).

9. Almendro

9.1. INTRODUCCIÓN Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

Las regiones españolas principales productoras son Aragón, Andalucía, Castilla-La Mancha, Valencia, Murcia y Cataluña. Actualmente, se está produciendo una expansión del cultivo desde las zonas costeras y el Valle del Ebro, donde su cultivo era tradicional, hacia zonas interiores y con mayor riesgo de heladas de Andalucía, Extremadura, Murcia, Cataluña, Aragón, La Rioja, Castilla-La Mancha y Castilla y León. La expansión del cultivo se está produciendo principalmente por el atractivo de los precios de la almendra en estos últimos años y la disponibilidad de nuevas variedades autocompatibles de floración tardía y muy productivas obtenidas por los programas de mejora genética españoles, así como por la posibilidad de cultivo en zonas con mayor incidencia de heladas utilizando las recientes variedades de floración extra-tardía. El previsible incremento de la producción española en los próximos años, no va a suponer un problema para la industria, sino todo lo contrario, mejorará su competitividad. Hay que tener en cuenta que España es el mayor importador de almendra californiana, 95.700 toneladas el año 2017, casi el doble de la producción española, y un aumento de la producción ayudaría a disminuir esta dependencia. Por otra parte, destaca la importante industria transformadora de almendra en nuestro país..

9.2. OBJETIVOS DE MEJORA

La mejora varietal del almendro es importante en España, con tres programas activos que han suministrado a los agricultores nuevas variedades, algunas de indudable éxito comercial y extensamente plantadas en distintas regiones, e incluso en el extranjero. El primero de estos programas se inició en 1974 en el actual CITA de Aragón por A.J. Felipe, el segundo en 1975 en el actual Centro de Mas Bover del IRTA por F.J. Vargas, y el tercero en 1985 en el CEBAS-CSIC de Murcia por E. García. Otros programas activos se desarrollan en California (tanto por la Universidad de California en Davis como por obtentores privados), en Australia (por la Universidad de Adelaide) y en Israel (por los centros de Bet Dagan y Newe Ya'ar).

Actualmente los objetivos prioritarios en la mejora genética del almendro en la mayoría de los programas son:

- Autocompatibilidad, con el fin de asegurar la polinización, incluso en condiciones climatológicas adversas, así como permitir las plantaciones monovarietales por su mayor facilidad de manejo, especialmente para las nuevas plantaciones intensivas, en las que el movimiento de los insectos polinizadores puede verse muy reducida.
- Floración tardía y extra-tardía, especialmente para la extensión del cultivo a zonas con mayor riesgo de heladas.
- Calidad de la pepita, no sólo por la propia calidad organoléptica, sino también para la utilización de cada variedad para productos especializados.
- En relación con la calidad, un valor nutricional más elevado, por la presencia de antioxidantes y otros compuestos que no sólo aportan valores nutricionales, sino también saludables y permitan una mejor conservación de la pepita.
- Maduración escalonada de las variedades, para facilitar la recolección en grandes plantaciones y un mejor aprovechamiento de la maquinaria. Especialmente es interesante la maduración temprana, que permite una rápida comercialización.
- Arquitectura del árbol (vigor, ramificación, y hábito de fructificación), localización de los brotes productivos (ramilletes de mayo) y flexibilidad de los ramos, especialmente para la adaptación a los nuevos sistemas intensivos y a su mecanización.
- Resistencia a plagas y enfermedades para reducir la aplicación de productos fitosanitarios para su control.

Respecto a los objetivos de mejora para el cambio climático, cabe señalar que hasta ahora no se ha considerado la floración temprana para su cultivo en zonas con menos frío invernal, habiéndose observado, problemas de adaptación de variedades de floración tardía en zonas cálidas o semi-tropicales, como en Marruecos (Alonso et al., 2017). Sin embargo, en el pasado la floración temprana se consideró un carácter interesante en zonas áridas, ya que podría estar relacionada en algunos casos con maduración temprana, previa a las condiciones de sequía y temperaturas extremas del verano.

9.3. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEJORA GENÉTICA

El primer mapa genético del almendro se construyó a partir de una población F1 'Ferragnès' x 'Tuono' obtenida en el IRTA (Viruel et al., 1995). Posteriormente, se elaboró un mapa saturado usando una descendencia F2 proveniente de un cruzamiento

interespecífico almendro ('Texas') x melocotonero ('Earlygold') mediante autofecundación de un híbrido F1 (MB 1-37) y se detectaron los ocho cromosomas del género *Prunus* (Joobeur et al., 1998). Recientemente, se han realizado diversos esfuerzos para desarrollar el conocimiento y las herramientas genómicas para aplicar la selección asistida por marcadores a la mejora del almendro y aumentar así la eficacia de los programas de mejora (Socias i Company, 1998; Arús, 2010; Font i Forcada et al., 2017). Sin embargo, todavía la SAM no se ha aplicado extensivamente, excepto para la detección del alelo *Sf* de la autocompatibilidad. La floración en almendro es un carácter generalmente cuantitativo pero en 'Tardy Nonpareil' se ha identificado un gen mayor que le hace florecer 10-15 días después de 'Nonpareil' (Kester 1965; Grasselly, 1978; Batlle et., al. 2017; Dicenta et al., 2017) y se están desarrollando marcadores para uso en selección precoz (Ballester et al., 2001; Sánchez-Pérez et al., 2007a). Por otra parte, existe información sobre el mapeado de algunos caracteres cuantitativos tales como producción, fecha de maduración o pepitas dobles (Sánchez-Pérez et al., 2007b), composición de la almendra (Font i Forcada et al., 2012) y características físicas de la almendra (Fernández i Martí et al., 2013). Campalans et al., 2001 mostraron que diferentes niveles de expresión génica relacionada con la sequía pueden utilizarse en mejora. Actualmente, existe una iniciativa para la publicación del genoma del almendro 'Texas' y de re-secuenciación de 50 cultivares de origen diverso. Los datos genómicos del melocotonero (Verde et al., 2013) y del 9K IPSC peach SNP array v1 (Verde et al., 2012) pueden ser aplicables en el almendro, debido a la proximidad genética entre ambas especies, aunque la disponibilidad de la secuencia del almendro puede acelerar el desarrollo de técnicas para incrementar la selección de caracteres cuantitativos, como los estudios de cartografía de asociación (Mackay y Powell, 2007; Font i Forcada et al., 2015a, b) o la selección genómica (Heffner et al., 2009).

9.4. RECURSOS FITOGENÉTICOS Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS PARA SU USO EN MEJORA

Varias especies de almendro silvestres están distribuidas por el oeste y centro de Asia y el este de Europa (Grasselly, 1976; Socias i Company., 2017a). Entre las especies que han contribuido al origen del almendro cultivado a través de hibridaciones destacan *P. fenzliana* Fritsch, *P. bucharica* (Korsh.), Fedstscg, *P. kuramica* (Korsh.) Kitam. y *P. trilobata* Lindl (Zeinalabedini et al. 2010). En la región Mediterránea *P. webbii* (Spach) Vierh. parece haber transmitido su autocompatibilidad al almendro. Así 'Tuono' ha sido el cultivar autocompatible, originario de Puglia, Italia, más utilizado como donante del



alelo *Sf* en los programas de mejora europeos. En EEUU, en cambio, se ha utilizado melocotonero para transferir autocompatibilidad al almendro (Socias i Company, 2017b). Por otra parte, la mayoría de especies silvestres muestran un período de fructificación corto, su utilización en programas de mejora se sugirió por Grasselly (1976), aunque su utilización ha sido limitada y no para este objetivo (Gradziel, 2003).

La colección de almendro del CITA de Aragón es la colección nacional de referencia de la Red Española de Bancos de Germoplasma del INIA y de las oficinas de registro de variedades de España y de la Unión Europea (Espiau et al., 2002), y conserva una muestra de la gran diversidad del germoplasma del almendro español, estando representadas las principales comunidades productoras de almendra de España (Aragón, Cataluña, Murcia, Andalucía, Comunidad Valenciana, Baleares y Canarias). Las colecciones del IRTA en Cataluña y del CEBAS en Murcia también conservan un gran número de variedades. Algunos otros organismos también han llevado a cabo actividades de recolección y mantenimiento de las variedades, especialmente las locales, no sólo en regiones con tradición e importancia en el cultivo del almendro, como Mallorca (J. Fornés, comunicación personal) y Canarias (Pardilla et al., 2014), con variedades propias de características muy singulares, sino también en regiones de menor importancia en la producción del almendro como Castilla y León (M.C. Asensio, comunicación personal). Los programas de mejora españoles han utilizado algunos de estos recursos, aunque la utilización de las variedades locales ha sido escasa (Socias i Company et al., 2016), debido a que no presentan las características deseables indicadas en los objetivos actuales de la mejora. La base de datos de Centro de Recursos Fitogenéticos del INIA (<http://wwwx.inia.es/inventarionacional>, así como <http://wwwx.inia.es/coleccionescrf/PasaporteCRF.asp>) alberga el inventario de las variedades conservadas en las distintas colecciones, así como sus datos de pasaporte. El CITA también conserva una colección de especies silvestres próximas al almendro (Felipe, 1984), aunque no se han utilizado hasta ahora en los programas de mejora españoles.

10. Bibliografía

- Alonso, J.M., Socias i Company R. and Kodad O. 2017. Late-blooming in almond: A controversial objective. *Scientia Horticulturae* 224:61-67
- Arús, P. 2010. Marcadores moleculares en genética y mejora del almendro. *Fruticultura. Extraordinario* 10: 64-69.

- Atkinson, C.J., Brennan, R.M. and Jones, H.G. 2013. Declining chilling and its impact on temperate perennial crops. *Environmental and Experimental Botany* 91, 48–62.
- Badenes, M.L., Fernández i Martí, A., Ríos, G. and Rubio-Cabetas, M.J. 2016. Application of genomic technologies to the breeding of trees. *Frontiers in Genetics* 7: 198.
- Bailey, C.H. and Hough LF. 1975. Apricots. In: Janick, J. and Moore, J.N. (eds) *Advances in Fruit Breeding*, Purdue University Press, Indiana, pp. 367-386.
- Balas, F. 2016. Firmness QTL analysis in sweet cherry. Trabajo fin de Master of Science in Mejora Genética Vegetal. Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ) del Centro de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (CIHEAM). 100 pp.
- Ballester, J., Socias i Company, R., Arús, P. and de Vicente, M.C. 2001 Genetic mapping of a major gene delaying blooming time in almond. *Plant Breeding* 120, 268–270.
- Bañuls, P.; Manzano, M.A.; Mateos, J.; Serradilla, M.J.; Pérez; F. y López-Corrales, M. 2012. Caracterización de variedades autóctonas de cerezo del Valle del Jerte. VI Congreso de mejora genética de plantas, 229-230.
- Bassett, C.L., Fisher, K.M. and Farrell, R.E. 2015. The complete peach dehydrin family: characterization of three recently recognized genes. *Tree Genetics and Genomes* 11: 126.
- Batlle, I.; Dicenta, F.; Socias i Company, R., Gradziel, T. M. Wirthensohn M.G.; Duval, H. and F. J. Vargas 2017. Classical genetics and breeding. In: Socias i Company, R., Gradziel, T.M. (Eds.), *Almonds: Botany, Production and Uses*. CABI Oxfordshire, UK. 111-148.
- Bell, R.L. 1992. Pears (*Pyrus*). *Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops II*. En: J.N. Moore, J.R. Ballington Jr. *Acta Horticulturae* 290. 657-697.
- Bielenberg, D.G., Wang, Y., Li, Z., Zhebentyayeva, T., Fan, S., Reighard, G.L., Scorza, R. and Abbott, A.G. 2008. Sequencing and annotation of the evergrowing locus in peach (*Prunus persica* [L.] Batsch) reveals a cluster of six MADS-box transcription factors as candidate genes for regulation of terminal bud formation. *Tree Genet Genomes* 4:495–507.
- Bielsa, B., Leida, C. and Rubio-Cabetas, M.J. 2016. Physiological characterization of drought stress response and expression of two transcription factors and two LEA genes in three *Prunus* genotypes. *Scientia Horticulturae* 213: 260-269
- Blazek, J. 2007. A survey of the genetic resources used in plum breeding. *Acta Horticulturae* 734 31–45.
- Burbank, L., 1914. *Luther Burbank: His Methods and Discoveries and Their Practical Application*. Luther Burbank Press, New York, NY.

- Bus, V., Laurens, F., van de Weg, E., Rusholme, R., Rikkerink, E., Gardiner, S., Bassett, H., Kodde, L. and Plummer, K. 2005. The Vh8 locus of a new gene-for-gene interaction between *Venturia inaequalis* and the wild apple *Malus sieversii* is closely linked to the Vh2 locus in *Malus pumila* R12740-7A. *New Phytol.* 166, 1035–1049.
- Bus, V., Rikkerink, E., Caffier, V., Durel, C. and Plummer, K. 2011. Revision of the nomenclature of the differential host–pathogen interactions of *Venturia inaequalis* and *Malus*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 49, 391–413.
- Byrne, D. H., 2005. Trends and progress of low-chill stone fruit breeding. Reports from the second Int. Workshop, 19-23 April. Chiang Mai, Thailand.
- Byrne, D.H., Sherman, W.B., Bacon, T.A. 2000. Stone fruit genetic pool and its exploitation for growing under warm climatic conditions. In: Erez, A. (Ed.), *Temperate Fruit Crops in Warm Climates*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 157–230.
- Cabrera, A., Rosyara, U. R., De Franceschi, P., Sebolt, A., Sooriyapathirana, S. S., Dirlewanger, E., Quero-Garcia, J., Schuster, M., Iezzoni, A.F. and Van der Knaap, E. 2012. Rosaceae conserved orthologous sequences marker polymorphism in sweet cherry germplasm and construction of a SNP-based map. *Tree Genetics & Genomes*, 8(2), 237–247.
- Cachi, AM. and Wünsch, A. 2009. Identificación del genotipo S de variedades locales de cerezo. *Actas de Horticultura* 54:524-525.
- Cachi, AM. and Wünsch, A. 2014. S-genotyping of sweet cherry varieties from Spain and S locus diversity in Europe. *Euphytica* 197(2):229-236.
- Campalans, A., Pagès, M. and Messeguer, R. 2001 Identification of differentially expressed genes by the cDNA-AFLP technique during dehydration of almond (*Prunus amygdalus*). *Tree Physiology* 21, 633–643.
- Campoy, J.A., Le Dantec, L., Barreneche, T., Dirlewanger, E. and Quero-Garcia, J. 2015. New Insights into Fruit Firmness and Weight Control in Sweet Cherry. *Plant Molecular Biology Reporter* 33(4), 783–796.
- Campoy, J.A., Ruiz, D. and Egea, J. 2011 Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: a review. *Scientia Horticulturae* 130, 357–372.
- Campoy, J.A., Ruiz, D., Egea, J., Rees, J., Celton, J.M. and Martínez-Gómez, P. 2011. Inheritance of flowering time in apricot (*Prunus armeniaca* L.) and analysis of linked quantitative trait loci (QTLs) using simple sequence repeat markers. *Plant Molecular Biology Reporter* 29, 404–410.

- Castède, S., Campoy, J.A., Quero García, J., Le Dantec, L., Lafargue, M., Barreneche, T., Wenden B. and Dirlewanger E. 2014. Genetic determinism of phenological traits highly affected by climate change in *Prunus avium*: flowering date dissected into chilling and heat requirements. *New Phytologist* 202, 703-715.
- Chagné, D., Crowhurst, R.N., Pindo, M., Thrimawithana, A. and Deng, C. 2014. The Draft Genome Sequence of European Pear (*Pyrus communis* L. 'Bartlett'). *PLOS ONE* 9(4): e92644.
- Chagné, D., Kirk, C., How, N., Whitworth, C., Fontich, C., Reig, G., Sawyer, G., Rouse, S., Poles, L., Gardiner, S., Kumar, S., Espley, R., Volz, R.K., Troggio, M. and Iglesias, I. 2016. A functional genetic marker for apple red skin coloration across different environments. *Tree Genetics and Genomes* 12:1-9.
- Choi, C. and Kappel, F. 2004. Inbreeding, coancestry, and founding clones of sweet cherries from North America. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 129:535-543.
- Cullinan, F.P. 1937. Improvement of stone fruits. In 'United States Department of Agriculture Yearbook of Agriculture. United State Printing Office Washington D.C. 665-748.
- De Franceschi, P., Stegmeir, T., Cabrera, A., van der Knaap, E., Rosyara, U. R., Sebolt, A. M., and Iezzoni. A.F. 2013. Cell number regulator genes in *Prunus* provide candidate genes for the control of fruit size in sweet and sour cherry. *Molecular Breeding* 32(2), 311-326.
- DeGrandi-Hoffman, G., Thorp, R., Loper, G. and Eisikowitch, D. 1996. Describing the progression of almond using accumulated heat units. *Journal of Applied Ecology* 33, 812-818.
- Dennis Jr. F.G. 2003. Problems in standardizing methods for evaluating the chilling requirements for breaking of dormancy in buds of woody plants. *Hortscience* 38(3), 347-350.
- Dicenta, F.; Sánchez-Pérez R.; Batlle, I. and P. Martínez-Gómez. 2017. Late-blooming Cultivar Development. In: *Socias i Company, R., Gradziel, T.M. (Eds.), Almonds: Botany, Production and Uses*. CABI Oxfordshire, UK. 168-187.
- Dirlewanger, E., Claverie, J., Iezzoni, A. F. and Wünsch, A. 2009. Sweet and Sour Cherries: Linkage Maps, QTL Detection and Marker Assisted Selection. In K. M.Folta & S. E. Gardiner (Eds.), *Genetics and Genomics of Rosaceae* (pp. 291-313). Springer Science + Bussines Media.



- Dirlewanger, E., Graziano, E., Joobeur, T., Garriga-Caldere, F., Cosson, P., Howad, W., Arus, P. 2004. Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(26), 9891–9896. <http://doi.org/10.1073/pnas.0307937101>
- Dunemann, F., Bracker, G., Markussen, T., Roche, P. 1999. Identification of molecular markers for the major mildew resistance gene PI2 in apple. *Acta Horticulturae* 484:411–416.
- Dunemann, F., Peil, A., Urbanietz, A. and Garcia-Libreros, T. 2007. Mapping of the apple powdery mildew resistance gene PI1 and its genetic association with an NBS-LRR candidate resistance gene. *Plant Breeding*, 126: 476–481.
- Eldem, V., Çelikkol Akçay, U., Ozhuner, E., Bakır, Y., Uranbey, S. and Unver, T. 2012. Genome-wide identification of miRNAs responsive to drought in peach (*Prunus persica*) by high-throughput deep sequencing. *PLoS One*. 2012. 7 (12):e50298. doi: 10.1371/journal.pone.0050298.
- Esmaili, F., Shiran, B., Fallahi, H., Mirakhorli, N., Budak, H. and Martínez-Gómez, P. 2017. In silico search and biological validation of microRNAs related to drought response in peach and almond. *Funct Integr Genomics*. 17(2-3):189-201. doi: 10.1007/s10142-016-0488-x.
- Espiau M.T, Ansón J.M. and Socias i Company R. 2002. The almond germplasm bank of Zaragoza. *Acta Hort*. 591:275-278.
- Fadón E, C. Sallán, J. Andreu y Rodrigo, J. 2017. Variedades autocompatibles de cerezo. *Revista de Fruticultura* 53: 24-31
- Fan, S, Bielenberg, DG, Zhebentyayeva, TN, Reighard, G.L., Okie, W.R., Holland, D. and Abbott, A.G. 2010 Mapping quantitative trait loci associated with chilling requirement, heat requirement and bloom date in peach (*Prunus persica*). *New Phytol* 185:917–930.
- Fanning, K., Topp, B., Russell, D., Stanley, R. and Netzel, M. 2014. Japanese plums (*Prunus salicina* Lindl.) and phytochemicals – breeding, horticultural practice, post-harvest storage, processing and bioactivity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94:2137-2147
- FAOSTAT (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2016. www.faostat.fao.org
- FAOSTAT (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2018. www.faostat.fao.org

- Faust, M., Surányi, D. and Nyujtó, F. 1998. Origin and dissemination of apricot. *Horticultural Review* 22, 225-266.
- Felipe A. 1984. État de l'arboretum des espèces sauvages à Saragosse. *Options Méditerranéennes CHIHEAM/IAMZ 84/II*, 203–204.
- Fernández i Martí A., Font i Forcada, C., and Socias i Company, R. 2013. Genetic analysis for physical nut traits in almond. *Tree Genet. and Genomes* 9, 357-374.
- Fideghelli, C. and Della Strada, G. 2009. Plum. In: *The fruit varieties released in the world from 1980 through 2008*. Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Rome, Italy, pp. 224-249.
- Font i Forcada, C., Socias i Company, R. and Fernández i Martí, A. 2012. Mapping QTLs for kernel composition in almond. *BMC Genetics* 13, 47
- Font i Forcada, C. Sánchez-Pérez, R. Eduardo, I. Wu, SB. and Fernández i Martí A. 2017. *Molecular Breeding and Genomics In: Socias i Company, R., Gradziel, T.M. (Eds.), Almonds: Botany, Production and Uses*. CABI Oxfordshire, UK. 149-167.
- Font i Forcada, C., Oragudzie, N., Reyes-Chin-Wo, S., Espiau, M.T., Socias i Company, R. and Fernández i Martí, A. 2015a Identification of genetic loci associated with quality traits in almond via association mapping. *Plos One*. DOI: 101371/journal-pone0127656.
- Font i Forcada, C., Velasco, L., Socias i Company, R. and Fernández i Martí, A. 2015b Association mapping for phytosterol content in almond. *Frontiers in Plant Science*. doi: 10.3389/fpls.2015.00530.
- Gao, Z.S., van de Weg, WE., Schaart, JG., Schouten, HJ., Tran, DH., Kodde, LP., van der Meer, IM., van der Geest, AHM., Kodde, J., Breiteneder H., Hoffmann-Sommergruber, H., Bosch, D., Gilissen, LJWJ. 2005a. Genomic cloning and linkage mapping of the Mal d 1 (PR-10) gene family in apple (*Malus domestica*). *Theor Appl Genet* 111:171–183.
- Gao, Z.S., Van de Weg, WE., Schaart, JG., Van der Meer, IM., Kodde, L., Laimer, M., Breiteneder, H., Hoffmann-Sommergruber, K., Gilissen, LJWJ. 2005b. Linkage map positions and allelic diversity of two Mal d 3 (non-specific lipid transfer protein) genes in the cultivated apple (*Malus domestica*). *Theor Appl Genet* 110:479–491.
- Gradziel, T.M. 2003. Interspecific hybridizations and subsequent gene introgression within *Prunus* subgenus *Amygdalus*. *Acta Horticulturae* 622, 249–255.
- Grasselly, C. 1976. Les espèces sauvages d'amandier. *Options Méditerranéennes* 32, 28–43.



- Grasselly, C. 1978. Observations sur l'utilisation d'un mutant d'amandier à floraison tardive dans un programme d'hybridation. *Annales d'Amélioration des Plantes* 28, 685-695.
- Guerra, M.E., Rodrigo, J., López-Corrales, M. and Wünsch, A. 2009. S-RNase genotyping and incompatibility group assignment by PCR and pollination experiments in Japanese plum. *Plant Breeding*, 128, 304-311.
- Guerra M.E. and Rodrigo J. 2015. Japanese plum pollination: A review. *Scientia Horticulturae* 197: 674-686.
- Guerra, M.E. y Rodrigo, J. 2017. Ciruelo japonés: renovación varietal y mejora genética. *Agricultura (Editorial agrícola): Julio-Agosto 2017*, 462:466.
- Guerrero, R., Viti, R., Monteleone, P., Gentili, M. 2002. La valutazione della dormienza nell'albicocco: tre metodi a confronto. *Frutticoltura* 3, 73-77.
- Hauagge, R. and Cummins, J.N. 1991. Genetics of length of dormancy period in *Malus* vegetative buds. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 116, 121-126.
- Hauagge, R. and Cummins, J.N. 2000. Pome fruit genetic pool for production in warm climates. En: *Temperate fruit crops in warm climates*. A. Erez (ed.). p: 267-303.
- Hedrick, U.P. 1911. *The Plums of New York* Lyon J. B., Albany.
- Hedrick, U.P., Howe, G.H., Taylor, O.M., Tubergen, C.B., Wellington, R. 1915. *The Cherries of New York*. Report of the New York Agricultural Experiment Station for the Year 1914 II. J.B. Lyon, Albany, N.Y.
- Heffner, E.L., Sorrells, M.E., and Jannink, J.L. 2009. Genomic selection for crop improvement. *Crop Sci.* 49:1-12. doi:10.2135/cropsci2008.08.0512
- Hernández Mora, J.R., Micheletti, D., Bink, M., Van de Weg, E., Cantin, C., Nazzicari, N., Caprera, A., Dettori, M.T., Micali, S., Banchi, E., Campoy, J.A., Dirlewanger, E., Lambert, P., Pascal, T., Troggo, M., Bassi, D., Rossini, L., Verde, I., Quilot-Turion, B., Laurens, F., Arús, P. and Aranzana, M.J. 2017. Integrated QTL detection for key breeding traits in multiple peach progenies. *BMC Genomics* 18: 404.
- Iglesias I, Peris M, Ruiz S, Rodrigo J, Malagón J, García F, López G, Bañuls P, Manzano MA, López-Corrales M, Rubio J. 2016c. El cultivo del cerezo en España: producción, mercado y consumo. *Revista de Fruticultura* 48: 6-39
- Iglesias, I. 2017 Nuevas variedades de melocotón, nectarina, pavia y melocotón plano: la mejora continua. *Revista de Fruticultura*, 58, 12-37.

- Iglesias, I., Bonany, J., Batlle, I., Cantín, C., Troglio, M., Allan, A.C., Friend, A., Espley, R.V., Lin-Wang, K., Chagné, D. and Volz, R.K. 2016a. The development of red skinned apples adapted to the warm climates of South European countries. *Chronica Horticulturae* 56 (1): 9-14.
- Iglesias, I., Bonany, J., Vilardell, P. y Ruiz, S. 2015. El cultivo del peral en España: tecnología de producción, consumo e intercambios comerciales. *Revista de Fruticultura. Especial* 45: 6-33.
- Iglesias, I., Carbó, J. y Bonany, J. 2016b Innovación varietal en manzana: situación y perspectivas de futuro. *Revista de Fruticultura: especial manzano* 52: 6-37.
- James, C.M. and Evans, K. 2004. Identification of Molecular Markers linked to the Mildew Resistance Genes PI-d and PI-w in Apple. *Acta Horticulturae* 663: 123-128.
- Jiménez, S., Reighard, G.L. and Bielenberg, D.G. 2010. Gene expression of DAM5 and DAM6 is suppressed by chilling temperatures and inversely correlated with bud break rate. *Plant Molecular Biology* 73: 157-167.
- Jomantiene, R., Zhao, Y., Lee, I.M. and Davis, R. E. 2011. Phytoplasmas infecting sour cherry and lilac represent two distinct lineages having close evolutionary affinities with clover phyllody phytoplasma. *European Journal of Plant Pathology* 130(1), 97-107.
- Joobeur T., M. A. Viruel, M. C. de Vicente, B. Jauregui, J Ballester. M. T. Dettori, I. Verde, M. J. Truco, R. Messeguer, I. Batlle, R. Quarta, E. Dirlewanger and P. Arús. 1998. Construction of a saturated marker linkage map for *Prunus* using an almond x peach F_2 -progeny. *Theor. and Appl. Genet.*, 97: 1034-1041.
- Kester, D.E. 1965. Inheritance of time of bloom in certain progenies of almond. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 87, 214-221
- Klagges, C., Campoy, J. A., Quero-García, J., Guzmán, A., Mansur, L., Gratacós, E. Ksouri, N., Jiménez, S., Wells, C.E., Contreras-Moreira, B. and Gogorcena, Y. 2016. Transcriptional Responses in Root and Leaf of *Prunus persica* under Drought Stress Using RNA Sequencing. *Front Plant Sci.* 7:1715.
- Ksouri, N., Jiménez, S., Wells, C.E., Contreras-Moreira, B., and Gogorcena, Y. 2016. Transcriptional responses in root and leaf of *Prunus persica* under drought stress using RNA sequencing. *Frontiers in Plant Science* 7: 1715.
- Kumar, S., Kirk, C., Deng, C., Wiedow, C., Knaebel, M. and Brewer, L. 2017. Genotyping-by-sequencing of pear (*Pyrus* spp.) accessions unravels novel patterns of genetic diversity and selection footprints. *Hortic Res.*; 4:17015.

- Leida, C., Conejero, A., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., Llácer, G., Badenes, M.L. and Ríos G. 2012a. Chilling-dependent release of seed and bud dormancy in peach associates to common changes in gene expression. *PLoS ONE* 7:e35777.
- Leida, C., Conesa, A., Llácer, G., Badenes, M.L. and Ríos, G. 2012b. Histone modifications and expression of DAM6 gene in peach are modulated during bud dormancy release in a cultivar-dependent manner. *New Phytologist* 193: 67-80.
- Lichou, J. and Audubert, A. 1989. *L'abricotier*. Centre Technique Interprofessionnel 386 pp.
- Liu, L., He, Y., Dong, B., Han, F., Wu, Y.X. Tian, J.B. 2012. Review of the peach germplasm resources and breeding in China. *Acta Hort.* 940. 187-192.
- Lloret, A., Conejero, C., Leida, C., Petri, C., Gil-Muñoz, F., Burgos, L., Badenes, M.L. and Ríos, G. 2017b. Dual regulation of water retention and cell growth by a stress associated protein (SAP) gene in *Prunus*. *Scientific Reports* 7: 332.
- López-Corrales, M., Mateos, J. R., Alarcon, M. V, Banuls, P., Perez, F., Serradilla, M. J., Manzano, M. A. 2014. Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Breeding Program in Southern Spain. *Acta Horticulturae* 1020: 53-56.
- Mackay, J.F. and Powell, W. 2007. Methods for linkage disequilibrium mapping in crops. 618. *Trends in Plant Science* 12, 57-63.
- MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2016. www.mapama.gob.es
- MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2018. www.mapama.gob.es
- Mehlenbacher, S.A., Cociu, V. and Hough, L.F. 1991. Apricots (*Prunus*). In: Moore, J.N. and Ballington, J.R. (eds.) *Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops*, International Society for Horticultural Science, Wageningen, pp. 65-107.
- Monet R. and Daniele B., 2008. Classical genetics and Breeding. In *The peach*. Botany, production and uses. Cap.3. Edited by Desmond R. Layne and Daniele Bassi. CAB international.
- Okie, W.R. and Hancock, J.F., 2008. Plums. In: Hancock, J.F. (Ed.), *Temperate Fruit Crop Breeding*. Springer, Netherlands, pp. 337-357.
- Olukolu, B.A., Trainin, T., Fan, S., Kole, C., Bielenberg, D, Reighard G, Abbott A. and Holland D. 2009. Genetic linkage mapping for molecular dissection of chilling requirement and budbreak in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Genome* 52, 819-828.

- Padilla G, Socias i Company R. and Ordás A. 2014. Molecular characterization of almond accessions from the island of La Palma (Canary Islands, Spain) using SSRs markers. *Plant Genet. Resour.* 12: 323-329.
- Patocchi, A., Frei, A., Frey, J. E. and Kellerhals, M. 2009. Towards improvement of marker assisted selection of apple scab resistant cultivars: *Venturia inaequalis* virulence surveys and standardization of molecular marker alleles associated with resistance genes. *Molecular Breeding* 24: 337-347.
- Pérez, S., Montes, S. and Mejía, C. 1993. Analysis of peach germplasm in Mexico. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118 (4): 519-524.
- Ramming, D.W. and Cociu, V. 1991. Plums (*Prunus*). In: Moore, J.N. and Ballington, J.R.J. (eds), *Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops*, Acta Horticulturae, 290 ISHS, Wageningen, pp. 235-287.
- Raseira, M.C.B., Nakasu, B. H., Santos, A.M., Fortes, J.F., Martins, O.M., Raseira, A. and Bernardi, J. 1992. The CNPTF/EMBRAPA fruit breeding program in Brazil. *Hortscience* 27(1), 1154:1157.
- Richardson, E.A., Seeley, S.D., Walker, D.R. 1974. A model for estimating the completion of rest for "Redhaven" and "Elberta" peach trees. *Hortscience* 1, 331-332.
- Ríos, G., García-Brunton, J., Naval, M., Zuriaga, E., Conejero, A., Lloret, A., Gil-Muñoz, F. y Badenes, M.L. 2016. Fenología de frutales y adaptación a climas cambiantes. *Agrícola Vergel* 395: 241-243.
- Ríos, G., Leida, C., Conejero, A. and Badenes, M.L. 2014. Epigenetic regulation of bud dormancy events in perennial plants. *Frontiers in Plant Science* 5: 247.
- Rodrigo J. y Guerra M.E. 2014. Cerezo y Ciruelo, In: *Rural, Cajamar-Caja Rural (Ed.)*, La fruticultura del siglo XXI en España, España, pp. 107-122.
- Rodrigo J., Macarulla, B. y Escartín JJ 2016. Variedades de cerezo de maduración tardía. *Revista de Fruticultura* 47:18-25.
- Rodríguez_A, J., Sherman, W.B., Scorza, R. Wisniewski, R. and Okie, W.R. 1994. 'Evergreen' peach, its inheritance and dormant behaviour. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119 (4): 789-792.
- Romeu, J.F., Monforte, A.J., Sánchez, G., Granell, A., García-Brunton, J., Badenes, M.L. and Ríos, G. 2014. Quantitative trait loci affecting reproductive phenology in peach. *BMC Plant Biology* 14: 52.
- Rosyara, U. R., Bink, M. C. A. M., van de Weg, E., Zhang, G., Wang, D., Sebolt, A. Ru, S., Main, D., Evans, KM. and Peace, C. 2015. Current applications, challenges, and

perspectives of marker-assisted deedling selection in Rosaceae tree fruit breeding. *Tree Genetics & Genomes* 11: 8.

Rubio, M., Ruiz, D., Egea, J., Martínez-Gómez, P. and Dicenta, F. 2014. Opportunities of marker-assisted selection for Plum pox virus resistance in apricot breeding programs. *Tree Genetics and Genomes* 10, 513-525

Ruiz, D., Campoy, J.A. and Egea, J. 2007. Chilling and heat requirements of apricot cultivars for flowering. *Environmental and Experimental Botany* 61, 254–263.

Ruiz, D., Egea, J., Guevara, A., García, F., Carrillo, A. and Cos, J. 2015. New Japanese plum (*Prunus salicina* L.) breeding program in Murcia (Spain). *Proceeding of the XIV Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics, Bologna, Italy.*

Ruiz, D., Lambert, P., Audergon, J.M., Bureau S. Gouble, S., Reich, M., C.M.G.C., Renard, Dondini, L., Tarantini, S., Adami, F., Cervellati C., De Franceschi., Sansavini, S. Bassi, D. and Testolin, R. 2010. Identification of QTLs for fruit quality traits in apricot. *Acta Horticulturae* 862, 587–592.

Salazar et al., 2017

Salazar, J.A., Ruiz, D., Egea, J. and Martínez-Gómez, P. 2013. Inheritance of fruit quality traits in apricot (*Prunus armeniaca* L.) and analysis of linked quantitative trait loci (QTLs) using simple sequence repeat (SSR) markers. *Plant Molecular Biology Reporter* 31, 1506-1517.

Sánchez-Pérez, R., Howad, D., Dicenta, F., Arús, P. and Martínez-Gómez, P. 2007b. Mapping major genes and quantitative trait loci controlling agronomic traits in almond. *Plant Breeding* 126, 310–318.

Sánchez-Pérez, R., Ortega, E., Duval, H., Martínez-Gómez, P. and Dicenta, F. 2007a. Inheritance and correlation of important agronomic traits in almond. *Euphytica* 155, 381–391.

Sancho, AI., van Ree, R., van Leeuwen, A., Meulenbroek, BJ., van de Weg, EW., Gilissen, LJ., Puehringer, H., Laimer, M., Martinelli, A., Zaccharini, M., Vazquez-Cortés, S., Fernandez-Rivas, M., Hoffmann-Sommergruber, K., Mills, EN., and Zuidmeer, L. 2008. Measurement of lipid transfer protein in 88 apple cultivars. *Int Arch Allergy Immunol.* 146(1):19-26.

Scorza, R. and Okie, W. R. 1991. Peaches (*Prunus*). *Acta Horticulturae* 290, 177-231.

Scorza, R. Sherman, W. B. 1996. Peaches. *En Fruit breeding. Vol I. Tree and Tropical fruits. Cap 7.* Edited by Jules Janick and James N. Moore. Jhon Wiley & Sons, Inc.

- Sherman, W.B., Topp, B.L. and Lyrene, P.M. 1992. Breeding low-chill Japanese-type plums for subtropical climates. *Acta Horticulturae*, 317, 149–153.
- Socias i Company, R. 1998. Fruit tree genetics at a turning point: the almond example. *Theor. and Appl. Genet.* 96: 588-601.
- Socias i Company, R., Felipe, A.J. and Gómez Aparisi, J. 1999. A major gene for flowering time in almond. *Plant Breeding* 118, 443–448.
- Socias i Company R., Espiau M.T., Kodad O., Fernández i Martí A., Alonso J.M. 2016. Capítulo 15. Almendro. En “Las variedades locales en la *mejora genética de plantas*” Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, Vitoria-Gasteiz. 480pp.
- Socias i Company, R. 2017a. Taxonomy, Botany and Physiology. In: Socias i Company, R., Gradziel, T.M. (Eds.), *Almonds: Botany, Production and Uses*. CABI Oxfordshire, UK. 1-42.
- Socias i Company, R 2017b. Pollen-style (In)compatibility: development of autogamous cultivars. In: Socias i Company, R., Gradziel, T.M. (Eds.), *Almonds: Botany, Production and Uses*. CABI Oxfordshire, UK. 188-208.
- Soriano, J.M., Domingo, M.L., Zuriaga, E., Romero, C., Zhebentyayeva, T., Abbott, A. and Badenes, M.L. 2012. Identification of simple sequence repeat markers tightly linked to Plum pox virus resistance in apricot. *Molecular Breeding* 30, 1017-1026.
- Stockinger, E. J., Mulinix, C. A., Long, C. M., Brettin, T. S., Iezzoni, A. F. 1996. A linkage map of sweet cherry based on RAPD analysis of a microspore-derived callus culture population. *Journal of Heredity* 87(3), 214–218.
- Topp, B.L., W.B. Sherman and M.C.B. Raseira. 2008. Cap. 3. Low-chill cultivar development. En *The peach. Botany, production and uses*. Edited by Desmond R. Layne and Daniele Bassi. CAB international.
- Topp, B.L., Russell, D.M., Neumüller, M., Dalbó, M.A. and Liu, W. 2012. Plum. In: Badenes, M.L. and Byrne, D.H. (eds), *Fruit Breeding, Handbook of Plant Breeding* 8, Springer, New York, pp. 571-621.
- Velasco, R., Zharkikh, A., Affourtit, J., Dhingra, A. and Cestaro, A. 2010. The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Nat Genet.* 42(10):833-9.
- Verde, I., Abbott, A.G., Scalabrin, S., Jung, S., Shu, S., Marroni, F., Zhebentyayeva, T., Dettoni, M.T., Grimwood, J., Cattonaro, F., Zuccolo, A., Rossini, L., Jenkins, J., Vendramin, E., Meisel, L.A., Decroocq, V., Sosinski, B., Prochnik, S., Mitros, T., Policriti, A., Cipriani, G., Dondini, L., Ficklin, S., Goodstein, D.M., Xuan, P., Del Fabbro, C., Aramini, V., Copetti, D., Gonzalez, S., Horner, D.S., Falchi, R., Lucas, S., Mica, E., Maldonado, J.,



- Lazzari, B., Bielenberg, D., Pirona, R., Miculan, M., Barakat, A., Testolin, R., Stella, A., Tartarini, S., Tonutti, P., Arús, P., Orellana, A., Wells, C., Main, D., Vizzotto, G., Silva, H., Salamini, F., Schmutz, J., Morgante, M. and Rokhsar, D.S. 2013. The high-quality draft genome of peach (*Prunus persica*) identifies unique patterns of genetic diversity, domestication and genome evolution. *Nature Genetics* 45: 487-494.
- Verde, I., Bassil, N., Scalabrin, S., Gilmore, B., Lawley, C.T., Gasic, K., Micheletti, D., Rosyara, U.R., Cattonaro, F., Vendramin, E., Main, D., Aramini, V., Blas, A.L., Mockler, T.C., Bryant, D.W., Wilhelm, L., Troggio, M., Sosinski, B.M.J., Arús, P., Iezzoni, A., Morgante, M., Peace, C. 2012. Development and evaluation of a 9K SNP array for peach by internationally coordinated SNP detection and validation in breeding germplasm. *Plos One* 7, 4.
- Vilanova, S., Romero, C., Abbott, A.G., Llácer, G. and Badenes, M.L. 2003. An apricot F2 progeny linkage map based on SSR and AFLP markers, mapping PPV resistance and self-incompatibility traits. *Theoretical and Applied Genetics* 107, 239-247.
- Vilanova, S., Romero, C., Burgos, L., Llácer, G. and Badenes, M. L. 2005. Identification of self-(in)compatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) by PCR and sequencing analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130, 893-898.
- Viruel, M.A. Messeguer R., de Vicente, M.C, García-Mas J. Puigdomènech P. Vargas, F. and Arús, P. 1995. A molecular marker map with RFLPs and isozymes for almond. *Theor. Appl. Genet.* 91: 964-971.
- Wang, D., Karle, R., Brettin, T. S., and Iezzoni, A. F. 1998. Genetic linkage map in sour cherry using RFLP markers. *Theoretical and applied genetics* 97(8): 1217-1224.
- Wang, J., Zhang, K., Zhang, X., Yan, G., Zhou, Y., Feng, L., Duan, X. 2015. Construction of commercial sweet cherry linkage maps and QTL analysis for trunk diameter. *PLoS ONE*, 10(10).
- Wang, Yu-Lin, 1985. Peach growing and germplasm in China. *Acta Horticulturae* 173, 51-55.
- Wu, J., Wang, Z., Shi Z., Zhang, S. and Ming, R., 2012. The genome of pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). *Genome Res.* 23(2):396-408.
- Wünsch, A. and Hormaza, J. I. 2004b. Molecular evaluation of genetic diversity and S-allele composition of local Spanish sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 635-641.
- Wünsch, A. and Hormaza, J. I. 2004c. S-Allele identification in sweet cherry cultivars by PCR analysis. *Plant Breeding* 127:327-331.



- Wünsch, A.; López-Corrales, M.; Gella, R.; Jiménez, M.C.; Rodrigo, J.; Arbeloa, A. y Herrero, M. 2008. Caracterización y diversidad genética de variedades autóctonas de cerezo mediante SSRs. *Actas de Horticultura*, 51, 81-82.
- Xiong-wei Li, Xian-qiao Meng, Hui-juan Jia, Ming-liang Yu, Rui-juan Ma, Li-rong Wang, Ke Cao, Zhi-jun Shen, Liang Niu, Jian-bao Tian, Miao-jin Chen, Ming Xie, P. Arús, Zhong-shan Gao and M. J. Aranzana. 2013. Peach genetic resources: diversity, population structure and linkage disequilibrium. *BMC Genetics* 2013, 14:84.
- Zeinalabedini, M., Khayam-Nekoui, M., Grigorian V., Gradziel, T., Martínez-Gómez, P. 2010. The origin and dissemination of the cultivated almond as determined by nuclear and chloroplast SSR marker analysis. *Scientia Horticulturae* 125, 593-601.
- Zhang, G., Sebolt, A. M., Sooriyapathirana, S. S., Wang, D., Bink, M. C. A. M., Olmstead, J. W., Iezzoni, A. F. 2010. Fruit size QTL analysis of an F-1 population derived from a cross between a domesticated sweet cherry cultivar and 54 a wild forest sweet cherry. *Tree Genetics & Genomes*, 6(1), 25-36.
- Zhebentyayeva, T.N., Fan, S., Chandra, A., Bielenberg, D.G., Reighard, G.L., Okie, W.R. and Abbott, A.G. 2014. Dissection of chilling requirement and bloom date QTLs in peach using a whole genome sequencing of sibling trees from a F2 mapping population. *Tree Genet. Genomes* 10, 35-51.



Capítulo IV.

INFLUENCIA DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA MEJORA DE CEREALES

Conxita Royo¹, Fanny Álvaro¹, Jose M. Soriano¹ y Assumpció Anton²

1 Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias (IRTA-Cataluña). Lleida.

2 Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias (IRTA-Cataluña). Torre Marimon (Barcelona).

*Coordinador: conxita.royo@irta.cat

CONTENIDO:

1. Introducción
2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro
 - 2.1. Contribución a las emisiones de gases de efecto invernadero
 - 2.2. Acciones de mitigación
 - 2.3. Acciones de adaptación
3. Objetivos de mejora
 - 3.1. Rendimiento potencial versus mejora de la adaptación
 - 3.2. Caracteres relacionados con la adaptación al estrés por calor y a la sequía





4. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 4.1. La nueva era de la genómica
 - 4.2. De la transgénesis a la edición génica
5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética
6. Agradecimientos
7. Bibliografía

Capítulo IV.

INFLUENCIA DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA MEJORA DE CEREALES

1. Introducción

Los cereales son el mayor grupo de especies cultivadas. Se siembran en más de 721 millones de ha en el mundo y producen unos 2.600 millones de t (FAO, 2017). Los cereales son un componente fundamental en la alimentación humana ya que a escala mundial aportan alrededor del 50% de las calorías y el 40% de las proteínas. En España los cereales proporcionan el 25% y el 23% de las calorías y proteínas para consumo humano, respectivamente, pero son además componentes básicos en la alimentación animal. En la actualidad alrededor del 40% de la producción de cereales se dedica a la alimentación del ganado, que a su vez aporta el 18% y el 40% del consumo de calorías y proteínas a escala global y el 60% y el 25%, respectivamente, en España (FAO, 2017).

Los grandes incrementos en la producción de cereales experimentados a lo largo del siglo XX fueron consecuencia en gran parte de la mejora genética gracias al desarrollo e introducción de variedades semienanas de trigo y arroz y a la producción de híbridos en maíz. Las nuevas variedades mejoradas permitieron la intensificación de los sistemas de cultivo (mayor uso de fertilizantes minerales, agua de riego, productos fitosanitarios, mecanización, etc.). De la gran biodiversidad aportada anteriormente por las rotaciones de cultivos y las variedades tradicionales de cereales se pasó paulatinamente al monocultivo cerealista de variedades genéticamente homogéneas y prácticas agronómicas mucho más intensivas, lo que dio lugar a una enorme pérdida de biodiversidad (Royo et al., 2017) y un incremento muy significativo del impacto ambiental causado por la producción de grandes cultivos.

2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro

Actualmente existen claras evidencias de los efectos del cambio climático sobre la agricultura y en particular sobre la producción de cereales en España. Ejemplo de es-

tos efectos son las adversas condiciones meteorológicas de la campaña 2016-17, que han provocado, a su vez, un descenso de la producción total de cereales de invierno (trigo, trigo duro y cebada) del 37% (MAPAMA, 2017).

Si bien en los modelos de futuros escenarios de cambio climático intervienen numerosas variables, lo que les confiere una elevada incertidumbre (<http://www.aemet.es/>), hay crecientes evidencias de que las principales amenazas para el cultivo de cereales serán el estrés térmico, derivado del aumento de las temperaturas medias y extremas, y la sequía (Reynolds et al., 2016). Las estimaciones del IPCC consideran que la temperatura de la tierra aumentará probablemente entre 1,4 y 4,8 °C a lo largo del próximo siglo, lo que puede dar lugar a una mayor frecuencia de episodios meteorológicos extremos y a un cambio en los regímenes de lluvia. Los modelos predictivos indican pérdidas en la producción de los principales cereales (trigo, maíz y arroz) a partir de incrementos en la temperatura media local de 2 °C, si no se llevan a cabo medidas de adaptación (Challinor et al., 2014). En el caso del trigo, las pérdidas de rendimiento debidas al incremento medio de la temperatura han sido cuantificadas en un 6% por cada grado centígrado de aumento de la temperatura (Asseng et al., 2014). Aunque la predicción de cambios en los regímenes pluviométricos es compleja, es previsible que en las regiones áridas y semiáridas, donde se concentra la mayor producción de cereales de invierno, la sequía sea uno de los mayores efectos del cambio climático. Diversos modelos climáticos coinciden en que la cuenca mediterránea será una de las regiones más vulnerables (<http://www.euro-cordex.net/>; Trnka et al., 2014), ya que en ella se prevé una reducción del 20% en la precipitación anual (<http://www.ipcc.ch/>; Bates et al., 2008). Cabe añadir también otros escenarios que pueden dar lugar a inundaciones, heladas (Porter et al., 2014) y cambios en la prevalencia y dispersión de plagas y patógenos (Chakraborty y Newton, 2011).

En el caso de España, las predicciones del cambio climático indican una tendencia negativa en el avance del rendimiento del trigo a lo largo del siglo XXI, consecuencia de la generalización de las sequías y el aumento en el rango de las temperaturas diurnas (Hernández-Barrera et al., 2017). El déficit de precipitaciones influirá sobre el rendimiento principalmente durante el otoño y la primavera, mientras que el efecto del incremento del rango de temperaturas diurnas tendrá una mayor influencia durante el invierno (Hernández-Barrera et al., 2017).

En este contexto el reto de la cerealicultura frente al cambio climático es doble: por un lado reducir su contribución a este fenómeno mediante las acciones de mitigación, y por el otro la selección de oportunas acciones de adaptación a los futuros escenarios

climáticos previstos. Dichas acciones implican, a su vez, una serie de desafíos debidos, no tan sólo a la complejidad inherente de los fenómenos biológicos y químicos implicados, sino también a las consecuencias socioeconómicas involucradas. Desde el punto de vista de la mejora de cereales el reto es enorme por la necesidad de incrementar la adaptabilidad, pero también la estabilidad de las nuevas variedades, ya que el rendimiento de los cereales depende muy directamente de las condiciones medioambientales (Sanchez-Garcia et al., 2012; Subira et al., 2015). La Figura 1 muestra la gran oscilación interanual de los rendimientos de las dos principales especies de trigo en España, causadas fundamentalmente por la diferencia de pluviometría entre campañas.

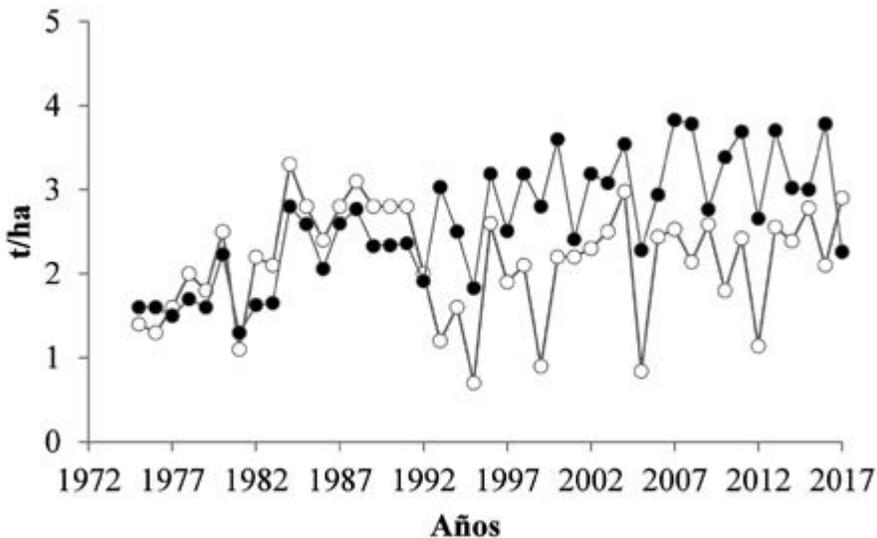


Figura 1. Rendimientos medios del trigo harinero (*Triticum aestivum* L., círculos negros) y del trigo duro (*Triticum turgidum* L. var. durum, círculos blancos) en España (1975-2017). Los rendimientos de la campaña 2016-2017 son estimaciones obtenidas en agosto 2017. Fuente: elaboración propia a partir de datos del MAPAMA.

2.1. CONTRIBUCIÓN A LAS EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO

La importancia e influencia recíproca entre cambio climático y agricultura se puso de manifiesto desde los primeros informes del IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), especialmente enfocados a cuantificar efectos del uso del suelo y la deforestación (IPCC 2003, 2006, 2013). Sin embargo, es a partir del Acuerdo de París COP21 (COP21, 2015) cuando se reconoció explícitamente el doble papel de la agri-

cultura como vía para asegurar la disponibilidad de alimentos y garantizar a su vez un correcto manejo de los recursos naturales, mayoritariamente gestionados por los agricultores. La reciente COP23 (COP23, 2017) destaca la importancia de incluir todos aquellos aspectos que puedan tener relación no sólo en la cuantificación de emisiones, sino también en la mejora y optimización de los aspectos de mitigación y adaptación de la agricultura. En definitiva adquiere fuerza la opción de aprovechar la oportunidad de convertir la agricultura en parte de la solución (Lal, 2016).

La agricultura participa en la emisión de los tres principales gases de efecto invernadero: dióxido de carbono (CO_2), óxido nitroso (N_2O) y metano (CH_4). Entre las emisiones directas, las de CO_2 se deben principalmente a la actividad microbiana durante la descomposición de materia orgánica; las de N_2O derivan fundamentalmente de la aplicación de fertilizantes nitrogenados; y las emisiones de CH_4 proceden de la ganadería (digestión de rumiantes y gestión de purines y estiércoles), así como del cultivo de arroz. Entre las emisiones indirectas destaca el uso de insumos, sobre todo fertilizantes y gasoil, que generan emisiones de gases de efecto invernadero (principalmente CO_2) durante su fabricación y combustión. Finalmente, pero con un enorme impacto global, la deforestación libera el CO_2 anteriormente retenido por la masa forestal.

Uno de los aspectos ampliamente debatido en la cuantificación de gases de efecto invernadero procede de diferenciar entre CO_2 fósil y biogénico. Mientras que el primero se genera a través de la combustión de energías fósiles, el segundo se origina por la descomposición de materia orgánica, y ha sido previamente fijado a través de la fotosíntesis. En este caso el cálculo del CO_2 previamente fijado por el cultivo debe sustraer del balance el que posteriormente será retornado al ambiente, bien como producto comestible, o a través de la descomposición de residuos. En los cultivos de cereales este balance es equilibrado ya que todo el CO_2 retenido vuelve a ser emitido, por lo que la mayoría de protocolos recomiendan no considerarlo (PAS 2050-1, 2012). Una excepción ocurre cuando parte de esos residuos se incorporan al suelo, con lo que el carbono contenido en la materia orgánica pasa a formar parte del mismo. El grado de fijación de este carbono depende de la actividad microbiana del suelo y a su vez de las condiciones edafo-climáticas del territorio. En el ámbito mediterráneo este valor es relativamente bajo: los trabajos realizados por Yagüe et al. (2017) señalan un aumento de 4 g C por kg de suelo después de 11 años con una aplicación de 30 t de estiércol por ha y año, valor que queda lejos de un aumento del 0,4% anual propuesto por la iniciativa 4p1000 (<http://www.4p1000.org/>) surgida del COP21.



Las emisiones de N_2O se producen principalmente por la actividad microbiana que transforma el nitrógeno presente en el suelo. El IPCC da un valor por defecto del 1% de volatilización en forma de emisiones de $N-N_2O$ debido a la aplicación de fertilizantes nitrogenados, con un rango que oscila entre el 0,2% y el 3%. Estos valores se basan principalmente en los trabajos de Bowman et al. (2002a y 2002b), quienes estudiaron la influencia de diferentes factores en las emisiones directas de N_2O y NO debidas a la aplicación de fertilizantes minerales y orgánicos. Las condiciones climáticas, el contenido de carbono, el pH del suelo, la textura y la propia naturaleza del fertilizante son factores que influyen en ese valor. En general las regiones tropicales presentan valores más altos de emisión que las templadas. Texturas compactas y un alto contenido de materia orgánica (MO) mayor del 6% pueden incrementar las emisiones de N_2O , mientras que un pH alto disminuye este factor. Evidentemente la cantidad, pero también el tipo de fertilizante, influyen en dichas emisiones. Los fertilizantes de origen orgánico presentan valores de emisión más bajos, mientras que los más elevados se dan en fertilizantes amoniacales; los fertilizantes basados en nitratos presentan valores más bajos que éstos (Bowman et al., 2002a).

Aunque la estimación de las emisiones depende mucho del criterio utilizado y las prácticas agrícolas, valores orientativos basados en estadísticas de producción las sitúan entre 200-500 g de CO_2 eq por kg de producción de cereal, siendo los principales contribuyentes a dichas emisiones la fabricación de fertilizantes minerales, las emisiones de N_2O en campo y el consumo de diésel en las diferentes operaciones agrícolas. El conocimiento de estos valores permitirá evaluar en qué medida las diferentes acciones correctivas pueden influir en la reducción y retención de dichas emisiones.

2.2. ACCIONES DE MITIGACIÓN

El principal objetivo de las acciones de mitigación es reducir las emisiones de CH_4 , CO_2 y N_2O , así como aumentar el secuestro de carbono en el suelo. Hay que considerar que la mayoría de acciones de mitigación tienen efectos positivos no tan sólo sobre el cambio climático, sino también sobre otros aspectos ambientales igualmente importantes. Por ejemplo, incrementar la materia orgánica del suelo mejora sus propiedades, el ciclo de nutrientes (C, N, y P) y la capacidad de retención de agua, lo cual redundaría en una mayor capacidad productiva del suelo y por lo tanto del rendimiento de cultivos, influyendo además sobre otros aspectos ambientales, como la eutrofización, erosión, disponibilidad hídrica y/o servicios ecosistémicos.

La aplicación de acciones de mitigación requiere estimar la contribución de las prácticas agrícolas a la emisión de gases de efecto invernadero IPCC (2006; 2013). No existe una

lista de acciones de mitigación universalmente aplicable a todos los cultivos de cereales, pues cada una de ellas debe ser cuidadosamente valorada en función de las variables coyunturales apropiadas. Sin embargo, hay una serie de acciones asociadas a la gestión del carbono y el nitrógeno, los dos nutrientes esenciales involucrados, que pueden contribuir a dicha mitigación. Las acciones más directas por parte del agricultor se centran en una mejor gestión del uso de nitrógeno y asegurar el almacenamiento de carbono en el suelo.

Estas acciones incluirían:

- Aumentar el contenido de materia orgánica del suelo para incrementar la fijación de CO_2 procedente de la fotosíntesis.
- Evitar dejar el suelo desnudo para impedir su degradación y erosión.
- Mejorar la capacidad de retención de la humedad del suelo, lo que aumentará la disponibilidad de agua, aspecto crítico en nuestras latitudes.
- Optimizar la aplicación de fertilizantes en cantidad y momento de aplicación, lo que reducirá las emisiones de N_2O y evitará lixiviados de N y P.
- Utilizar fertilizantes orgánicos, lo cual implica un aprovechamiento de residuos orgánicos y un ahorro en fertilizantes químicos.
- Reducir el laboreo del suelo, lo que mejorará su calidad y disminuirá el consumo de gasóleo.
- Introducir cultivos intermedios, ya sea temporal (rotaciones) o espacialmente (*intercropping*).
- Introducir márgenes verdes o agroforestales, que junto a un potencial de mayor secuestro de carbono incrementan la biodiversidad, otro de los mayores problemas ambientales identificados.
- Utilizar energías renovables y reducir insumos fósiles. Si bien el uso de energías renovables en la fabricación de insumos no depende directamente del agricultor, éste puede influir sobre el proveedor demandando incrementar el uso de energías renovables en la fabricación de materias primas utilizables en el cultivo de cereales.
- En línea con los factores energéticos cabe señalar la oportunidad de contribuir desde la agricultura a la producción de bioenergía (Smith y Olesen, 2010). Este es un tema no exento de polémica cuando compite por el uso del suelo con la producción de alimentos, pero mucho menos cuando la energía se produce a partir de residuos agrícolas y ganaderos (ej. biogás, biomasa), por la conversión de terrenos marginales o incorporando ciertos cultivos en las rotaciones (ej. cultivos captadores).

- Finalmente, pero no menos importante, aumentar la eficiencia productiva sin incrementar proporcionalmente las emisiones es una forma de reducir la tasa de emisión por unidad de producto. En este sentido, la obtención de variedades más productivas y de alta calidad pero con menos necesidades de insumos al ser más eficientes en el uso de los mismos (ej. nitrógeno o agua) es uno de los principales objetivos de la mejora de cereales en el actual contexto de cambio climático.

2.3. ACCIONES DE ADAPTACIÓN

Las acciones de adaptación deben aplicarse en base a las previsiones de los futuros escenarios de cambio climático que se describen al principio de esta sección. La mejora genética para el desarrollo de variedades resilientes, capaces de mantener elevados rendimientos en condiciones favorables y de estrés, es una de las principales vías para la adaptación de los cereales a las nuevas condiciones climáticas. Los umbrales de temperatura para el estrés térmico varían según la especie, su estadio fenológico y la duración e intensidad del estrés (Porter y Semenov, 2005). Por otro lado, los cereales responden al déficit hídrico utilizando diversas estrategias que han evolucionado a distintos niveles funcionales y que han sido manipuladas por los mejoradores para obtener variedades más adaptadas a ambientes de estrés. La mejora genética para adaptación al cambio climático se ve dificultada por el hecho de que el estrés por altas temperaturas y el déficit hídrico se dan a menudo de manera combinada, y a que la tolerancia a cada uno de estos estreses puede ser genéticamente distinta de la tolerancia a la combinación de ambos (Cairns et al., 2013).

En los siguientes apartados se abordan aspectos de la mejora de cereales que pueden contribuir a limitar los efectos del cambio climático sobre la productividad de los grandes cultivos a través de la manipulación genética de diversos caracteres relacionados con la resistencia al calor y/o la sequía.

3. Objetivos de mejora

3.1 RENDIMIENTO POTENCIAL VERSUS MEJORA DE LA ADAPTACIÓN

Tradicionalmente los esfuerzos de la mejora genética de cereales se han dirigido principalmente a elevar el rendimiento potencial. Los elevados incrementos productivos de los cereales registrados a partir de la mitad del pasado siglo obedecieron en parte a la mejora genética, pero fueron también consecuencia de una mayor intensifi-

cación del cultivo. La expresión del potencial productivo de las variedades mejoradas requirió modificar las prácticas agronómicas al efecto de proporcionarles un adecuado ambiente en cuanto a la disponibilidad hídrica y de nutrientes y la limitación de la competencia de las malas hierbas. Sin embargo, tanto las devastadoras consecuencias de la emisión de gases de efecto invernadero, como la dramática degradación sufrida por los suelos agrícolas en las últimas décadas, han hecho modificar el paradigma de la producción de muchos cultivos, entre ellos los cereales. El gran reto actual es el de la 'intensificación sostenible' que, en esencia, se refiere a incrementar la producción utilizando menos insumos y minimizando el impacto ambiental. Siendo ésta la nueva orientación de la producción de los grandes cultivos, la mejora genética ha de incluir forzosamente objetivos dirigidos a mejorar la adaptación a los estreses abióticos prevalentes, de manera que sea posible mantener elevados rendimientos en un amplio rango de condiciones ambientales.

El rendimiento potencial continúa siendo el principal objetivo de muchos programas de mejora, pero la efectividad de esta estrategia se ve limitada por la interacción genotipo por ambiente que se maximiza con las fluctuaciones interanuales en las condiciones ambientales, lo que dificulta la identificación de los genotipos con mayor potencial productivo. Cuando los estreses ambientales son poco severos y uniformes en el tiempo y la interacción genotipo x ambiente es de tipo cuantitativo, es decir, no modifica la ordenación de las variedades en función de su rendimiento, es posible el avance genético para condiciones de estrés a través de la selección por rendimiento en ambientes potenciales (Cattivelli et al., 2008). Sin embargo, cuando la interacción genotipo x ambiente es de naturaleza cualitativa (*cross-over*) la comprensión de los mecanismos fisiológicos y genéticos determinantes de la adaptación, ha permitido identificar un número de caracteres secundarios a incorporar en los programas de mejora para la adaptación a los estreses causados por calor y sequía (Araus et al., 2008).

3.2. CARACTERES RELACIONADOS CON LA ADAPTACIÓN AL ESTRÉS POR CALOR Y A LA SEQUÍA

Los rápidos incrementos de temperatura y el déficit hídrico característicos de las primaveras en clima mediterráneo hacen que los estreses del calor se combinen a menudo con los de la sequía en los cultivos de cereales, particularmente los de siembra otoñal. El momento más crítico para estas especies suele acontecer alrededor de la floración y durante las primeras etapas de llenado del grano en las que la demanda evapo-transpirativa de la planta es máxima. Existen diversas estrategias agronómi-



cas para limitar los efectos de los estreses causados por el calor entre las cuales se encuentran: i) modificar la fecha de siembra del cultivo para anticipar la floración de manera que esta tenga lugar con temperaturas más bajas (Gourdji et al., 2013), lo que en algunos ambientes puede conllevar un mayor riesgo de heladas tardías; ii) limitar el impacto del estrés térmico mediante un adecuado manejo agronómico que evite la deficiencia de nutrientes y una adecuada gestión del riego que impida el déficit hídrico.

El conocimiento de los mecanismos fisiológicos del cultivo permite la mejora de su adaptación a través de la manipulación genética. Existe una extensa bibliografía que recoge los caracteres de los cereales relacionados con su adaptación al calor y la sequía (Araus et al., 2008; Richards et al., 2010; Chapman et al., 2012; Cairns et al., 2013; Gong et al., 2015). Para que estos puedan ser usados como criterios de selección deben estar genéticamente correlacionados con el rendimiento, y tener una heredabilidad mayor que éste para minimizar la interacción genotipo x ambiente (Royo et al., 2005). Además debe existir variabilidad genética para el carácter en cuestión, debe conocerse su control genético, así como su relación con otras características del cultivo, y debe ser fácil de medir y de manera económica. El nivel de influencia del carácter sobre el rendimiento dependerá del tiempo en el que es efectivo (ej. un carácter que afecte el desarrollo foliar tendrá mayor influencia que otro que influya sobre la respuesta estomática frente a un episodio de sequía), y del nivel de organización (ej. molécula-célula-órgano-planta-dosel) en el que se expresa. Cuanto más próximo está el carácter al nivel del cultivo mayor será su influencia sobre el rendimiento.

Estos caracteres responden a distintos mecanismos fisiológicos del cultivo que han sido clasificados recientemente en tres grupos (Reynolds et al., 2016):

- a) *Fotosíntesis, biomasa y metabolismo*: El rendimiento de los cereales puede expresarse mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento} = \text{RAD} \times \% \text{RI} \times \text{RUE} \times \text{HI}$$

En la que RAD es la radiación incidente recibida a lo largo del ciclo de cultivo; %RI es el promedio de la fracción de RAD interceptada por el cultivo a lo largo de su ciclo; RUE es la eficiencia en el uso de la radiación o materia seca producida por unidad de radiación fotosintéticamente activa interceptada (PAR); HI es el índice de cosecha.

Los recientes aumentos del rendimiento de los cereales están relacionados con la mejora de la eficiencia en el uso de la radiación (Fischer y Edmeades, 2010). Desde un punto de vista teórico los aumentos de RUE pueden incrementar el rendimiento

hasta un 50% (Reynolds et al., 2012) debido en parte a una mayor tasa de crecimiento del cultivo (Fischer y Edmeades, 2010). Sin embargo, en el caso de algunos cereales, como el trigo y el arroz, la RUE se encuentra por debajo del límite teórico estimado en 2,7 g de materia seca MJ⁻¹ (Reynolds et al., 2012), por lo que existe la oportunidad de continuar incrementando el rendimiento a través de la mejora de este carácter incluso en condiciones de estrés. Entre los mecanismos propuestos para incrementar la RUE se incluyen: modificar la especificidad, tasa catalítica y regulación de la RuBisCO, incrementar la actividad de los enzimas del Ciclo de Calvin, introducir mecanismos para la concentración del CO₂ en los cloroplastos, optimizar la distribución de la luz y el nitrógeno en el dosel al mismo tiempo que se minimiza la fotoinhibición, e incrementar la contribución de la fotosíntesis de la espiga (Reynolds et al., 2012).

La duración del área foliar es un indicador de la senescencia prematura que puede darse en situaciones de estrés térmico e hídrico, durante y después de la floración, resultando en pérdidas de rendimiento y calidad del grano. Tanto un retraso en el inicio de la senescencia foliar como una reducción en la tasa de senescencia están asociados a mayores rendimientos en condiciones de sequía, ya que la duración del área foliar verde parece estar relacionada con la profundidad radicular (Christopher et al., 2008). Un correcto control de las enfermedades es un elemento clave para retrasar el inicio de la senescencia. Otras características relacionadas son la presencia de ceras y el enrollamiento de las hojas (Richards et al., 2010).

Las reservas acumuladas en los tallos antes de la floración juegan un papel crucial en el llenado del grano en condiciones de estrés terminal, en las que la fotosíntesis se ve disminuida (Blum, 1998; Álvaro et al., 2008; Royo et al., 2018). La contribución al llenado del grano y el índice de cosecha de la remobilización de los carbohidratos no estructurales acumulados en la planta antes de la floración pueden estimarse mediante la modificación del tamaño de la fuente y el sumidero del cultivo (Blum, 1998; Álvaro et al., 2008), determinando el peso específico de los tallos, analizando el contenido total de carbohidratos de los mismos, o de forma indirecta, mediante técnicas de balance de biomasa (Royo et al., 2018) o de teledetección (Dreccer et al., 2014).

En esta categoría también se incluyen los mecanismos de foto-protección. El estrés reduce el intercambio de gases, incrementando la temperatura de la hoja y reduciendo la concentración interna de CO₂, lo que aumenta el riesgo de daños por foto-inhibición. En los cereales, existen mecanismos de foto-protección, como la disminución del contenido de clorofila, o la aceleración del ciclo de las xantofilas (Chaves et al., 2003). También otros mecanismos anatómicos y bioquímicos como el enrollado de las hojas,

la pubescencia, la presencia de ceras en la cutícula o la posición de la hoja, permiten reducir la cantidad de radiación absorbida por la superficie foliar minimizando el riesgo de foto-inhibición y secado (Richards et al., 2010).

b) *Relaciones hídricas*. La capacidad de una planta para extraer la humedad del suelo es un factor clave para la adaptación a la sequía (Pinto y Reynolds, 2015). Los periodos de estrés hídrico varían en el tiempo y en intensidad y la eficiencia con que el cultivo utiliza el agua varía a lo largo del ciclo de cultivo, siendo la disponibilidad de agua durante el llenado del grano especialmente crítica en el caso de los cereales. La investigación de la tolerancia a la sequía utilizando transformaciones de un solo gen se ha concentrado típicamente en la supervivencia de las plantas que padecen estrés hídrico severo, raramente un rasgo importante en los cultivos (Richards et al., 2010). En este sentido, el foco debe ponerse en conseguir un uso eficiente del agua, a través de la mejora de la capacidad extractiva del cultivo en combinación con el ajuste de la disponibilidad y uso de la misma en los estadios clave del desarrollo (Blum, 2009).

La capacidad de la planta para absorber agua está directamente asociada a las características del sistema radicular. Sin embargo, no existe un gran consenso sobre si un sistema radicular más profundo contribuye a la adaptación de algunos cereales a ambientes con déficit hídrico. Parece que un sistema radicular vigoroso es favorable para incrementar el rendimiento del trigo en ambientes como el mediterráneo, en los que el cultivo depende en gran medida de la lluvia durante el cultivo (Palta et al., 2011). Se ha demostrado que los genes causantes del enanismo en trigo (*Rht*) tuvieron un importante efecto sobre la reducción del sistema radicular del trigo (Waines y Ehdaie, 2007; Wojciechowski et al., 2009; Subira et al., 2016). A pesar de ello, la introducción del alelo *Rht-B1b* en trigo duro mejoró la capacidad del cultivo para aprovechar el agua disponible durante el llenado del grano en beneficio de un mayor número de granos por espiga y peso del grano (Subira et al., 2015).

Caracteres para su potencial uso en mejora incluyen el aumento de la profundidad y distribución de las raíces y la mejora de la relación entre la materia seca de la raíz y la del tallo. Sin embargo, la dificultad que comportan las mediciones radiculares ha hecho que se utilicen indicadores indirectos relacionados con la apertura estomática, como el contenido relativo de agua (RWC, *relative water content*), la conductancia estomática, la discriminación isotópica del carbono $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (Δ) (Royo et al., 2008) o la temperatura del dosel vegetal (Parry et al., 2005). Por otro lado, la relación entre la geometría radicular y el ángulo de la raíz seminal (las variedades con raíces más profundas, muestran un ángulo más agudo) (Manschadi et al., 2008), ha permitido desarrollar métodos de cribado

de raíces, asumiendo que los genotipos que difieren en su arquitectura radicular en estadios tempranos, también diferirán en condiciones de campo en los estadios en los que la disponibilidad de nutrientes o agua sean más críticos (Canè et al., 2014).

El vigor inicial (*early vigour*), definido como un rápido desarrollo del área foliar o la biomasa del cultivo, ha sido asociado a la acumulación de biomasa antes de la floración. Es un carácter deseable en ambientes en los que existe disponibilidad hídrica al inicio del ciclo del cultivo, y el estrés se produce en estadios terminales. La expansión rápida del área foliar permite mejorar la economía del agua, ya que permite sombrear el suelo, reduciendo la evaporación, inhibiendo el desarrollo de vegetación adventicia que compite por el agua con el cultivo (Rebetzke et al., 2007) y aumentando el desarrollo radicular temprano (Liao et al., 2006). Las características más relacionadas con el vigor inicial son el tamaño del embrión y el grano (Aparicio et al., 2002), la longitud del coleóptilo (Rebetzke et al., 2005), la anchura de las hojas y el hábito de crecimiento postrado (Richards et al., 2002). El vigor inicial puede evaluarse a través de la medición de la biomasa del cultivo por métodos indirectos como la reflectancia espectral (Royo y Villegas, 2011) o la fotografía digital (Casadesús y Villegas, 2014). La expansión de sistemas de siembra en seco en el cultivo del arroz puede beneficiarse de la incorporación de este carácter.

c) *Ajuste fenológico* o la optimización de la duración de las diferentes fases de desarrollo del cultivo ha sido una de las estrategias más exitosas para la adaptación a ambientes subóptimos. El ajuste de la fecha de floración tiene un efecto directo sobre el rendimiento, y es el principal mecanismo para evitar que los estreses como el frío, las heladas tardías, el calor o la sequía, afecten los estadios más sensibles del ciclo reproductivo. En el caso de los cereales de invierno (trigo, trigo duro y cebada), los episodios de altas temperaturas y sequía son más probables y se intensifican a finales del ciclo del cultivo, de manera que la floración temprana es un mecanismo evolutivo de adaptación (Royo et al., 2014). El control genético de la floración es complejo ya que intervienen varios tipos de genes regulados por mecanismos epigenéticos y moleculares que responden a estímulos ambientales y endógenos (Hill y Li, 2016). Una mayor comprensión de estos mecanismos ha de permitir modular la duración de las distintas fases del desarrollo para ajustarlas a las condiciones previstas en diferentes ambientes.

4. Biotecnología aplicada a la mejora genética

En los últimos años se han producido grandes avances en la biología molecular que van a permitir dar un salto cualitativo en la mejora genética de los cereales. Entre estos



destacan los avances producidos en genómica, a partir del desarrollo de las nuevas tecnologías de secuenciación y de sistemas de genotipado de alta densidad, y las nuevas metodologías de edición génica que suponen un mayor control de la modificación genética introducida frente a las técnicas tradicionales de transgénesis.

4.1. LA NUEVA ERA DE LA GENÓMICA

En comparación con los métodos clásicos de mejora, la genómica ofrece nuevas oportunidades para la disección de caracteres de herencia cuantitativa. Durante las últimas décadas una gran variedad de marcadores han sido usados en estudios genéticos en cereales y otros cultivos (Landjeva et al., 2007), proporcionando un genotipado efectivo pero costoso debido al bajo número de marcadores que se pueden testar simultáneamente.

Esta situación ha cambiado en los últimos años por los avances que se han producido en las técnicas de secuenciación, que han reducido los costes hasta el punto que el genotipado basado en la secuencia o la propia secuenciación de genomas es factible para un gran número de especies, incluyendo aquellas con grandes genomas. Esto ha ocasionado que se empiecen a sustituir los marcadores moleculares hasta ahora empleados en la mejora genética por las llamadas plataformas de genotipado de alta densidad, lo que supone un ahorro considerable. El desarrollo de estas plataformas, como los DArTseq (<http://www.diversityarrays.com>) o los distintos chips de SNPs permiten genotipar colecciones de germoplasma en pocas semanas con miles de marcadores (Tabla 1).

La aparición de estos nuevos sistemas ha permitido un cambio en el concepto de la mejora genética asistida por marcadores (MAS – *Marker Assisted Selection*). De la utilización de unos pocos marcadores ligados generalmente a genes de herencia simple, la disponibilidad de miles de marcadores distribuidos homogéneamente por el genoma permite seleccionar caracteres complejos de herencia cuantitativa; es la denominada selección genómica. Esta técnica se plantea como una herramienta prometedora en el diseño de los nuevos programas de mejora ya que contribuirá a incrementar la ganancia genética de caracteres complejos. La técnica consiste en estimar la relación que existe entre un determinado carácter de interés y las distintas regiones del genoma. Para poder encontrar esta relación se utiliza una población de referencia que ha sido previamente genotipada y fenotipada para el carácter de interés. Una vez determinadas las regiones del genoma que influyen sobre el carácter y cuál es el efecto de las distintas combinaciones que se encuentran, se puede predecir el valor genómico y por tanto estimar el carácter de cada individuo genotipado se disponga o no de datos fenotípicos.

Tabla 1. Principales chips de SNPs en las distintas especies de cereales para el genotipado de alta densidad.

Chip	Número de Marcadores	Referencia
Arroz		
44K Array	44100	Tung et al., 2010
RICE6K	5102	Yu et al., 2014
RiceSNP50	51478	Chen et al., 2014
C6AIR	6000	Thompson et al., 2017
Avena		
6K BeadChip	5743	Tinker et al., 2014
Cebada		
Barley 9K iSelect SNP Data	7842	Comadran et al., 2012
50k Infinium iSelect SNP	49267	Bayer et al., 2017
Centeno		
Rye5K array	5234	Haseneyer et al., 2011
Maíz		
MaizeSNP50	49585	Ganal et al., 2011
maizeSNP3072	3072	Tian et al., 2015
Axiom Maize Genotyping Array	616201	www.thermofisher.com
Maize 55K SNP	55229	Xu et al., 2017a
Sorgo		
3K SNP array	2620	Bekele et al., 2013
Trigo		
Wheat9K SNP	8632	Cavanagh et al., 2013
Wheat90K SNP	81587	Wang et al., 2014a
Wheat15K SNP	12905	www.traitgenetics.com
Axiom 35k Breeders' Array	35143	www.thermofisher.com
820K Axiom® Array	817000	www.thermofisher.com

Aunque esta metodología se desarrolló inicialmente en mejora genética animal (Meuwissen et al., 2001), su uso en plantas ha ido en aumento en los últimos años, especialmente en cereales (Spindel et al., 2015). Encontramos algunos ejemplos en los últimos años para caracteres de rendimiento, calidad, resistencia a enfermedades, tolerancia a estreses abióticos, etc., en arroz (Grenier et al., 2015; Spindel et al., 2015, 2016), avena (Asoro et al., 2011), cebada (Nielsen et al., 2016; Schmidt et al., 2016; Thorwarth et al., 2017), centeno (Wang et al., 2014b; Schulthess et al., 2016), maíz (Gorjanc et al., 2016; Shikha et al., 2017; Zhang et al., 2017a) y trigo (Bassi et al., 2016; Huang et al., 2016; Michel et al., 2016).



4.2. DE LA TRANSGÉNESIS A LA EDICIÓN GÉNICA

Tradicionalmente la metodología utilizada para modificar genéticamente un organismo ha consistido en la transferencia de genes externos mediante la infección por *Agrobacterium tumefaciens* o mediante bombardeo de partículas, clasificada en transgénesis o cisgénesis en función del origen de los genes a transferir. La transgénesis es la modificación de la planta con uno o más genes de otro organismo o de otra planta donadora que es sexualmente incompatible con la receptora, mientras que la cisgénesis hace referencia a la modificación de una planta receptora con un gen de una planta sexualmente compatible. Este gen debe incluir tanto los intrones como el promotor y las secuencias terminadoras en la misma orientación (Schouten et al., 2006). La utilización de estos métodos tradicionales de modificación genética no permite controlar el lugar de inserción del gen transferido. Esta inserción puede además ser múltiple y producirse de manera aleatoria, producir efectos pleiotrópicos, de silenciamiento génico, etc. Además, la opinión pública y la estricta legislación en muchos países limitan el uso y comercialización de organismos modificados genéticamente (OGM). Los nuevos métodos biotecnológicos intentan evitar estas regulaciones. Para ello, y aunque en algún momento del proceso se hace uso de tecnologías de transformación, el producto final no presenta transgenes. Algunas de estas técnicas son el injerto en patrones modificados genéticamente, la inducción de floración precoz, la mutagénesis dirigida por oligonucleótidos, la mejora genética inversa, la metilación dirigida por RNA y la tecnología basada en nucleasas específicas de secuencia (SSN) (Schaart et al., 2016). Las tecnologías de edición genómica basada en nucleasas específicas permiten eliminar, mutar o reemplazar cualquier gen de interés.

Entre las distintas metodologías basadas en SSN en los últimos años está siendo de gran interés aquella basada en el sistema CRISPR-Cas9 (Voytas y Gao, 2014). El proceso de edición genómica con CRISPR-Cas9 incluye dos pasos. En el primero de ellos, el RNA guía, complementario a la región de DNA que se quiere modificar y sintetizado previamente, se asocia con una nucleasa, principalmente Cas9, aunque en cultivos como el arroz la nucleasa Cpf1 ha dado mejores resultados. Este RNA hibrida con la secuencia de interés presente en el genoma, dirigiendo a la nucleasa a cortar el ADN en la región concreta. En el segundo paso se activan los mecanismos naturales de reparación del ADN fragmentado. Las tecnologías de edición génica se han utilizado con éxito en cereales incluyendo cebada, maíz, sorgo, trigo y fundamentalmente arroz (Tabla 2).

Tabla 2. Genes mutados mediante la tecnología CRISPR en cereales.

Especie	Gen mutado	Referencia
Arroz	ROC5, SPP, YSA	Feng et al., 2013
	OsSWEET11, OsSWEET14	Jiang et al., 2013
	OsCAO1, OsLAZY	Miao et al., 2013
	OsPDS, OsBADH2, Oso2g23823, OsMPK2	Shan et al., 2013
	OsMPK5	Xie y Yang, 2013
	OsBEL	Xu et al., 2014
	OsPDS, OsPMS3, OsEPSPS, OsDERF1, Os-MSH1, OsMYB5, OsMYB1, OsROC5, OsSPP, OsYSA	Zhang et al., 2014
	OsDL, OsALS, OsNCED1, OsAO1	Endo et al., 2016
	OsEPSPS	Li et al., 2016a
	Gn1a, DEP1, GS3, and IPA1	Li et al., 2016b
	CSA	Li et al., 2016c
	OsERF922	Wang et al., 2016
	GW2, GW5, TGW6	Xu et al., 2016
	OsRLKs, OsBEL	Wang et al., 2017
	OsPDS, OsBEL	Xu et al., 2017b
Cebada	HvPM19	Lawrenson et al., 2015
	ENGase	Kapusi et al., 2017
Maíz	ZmIPK	Liang et al., 2014
	AP2, MADS, MYBR	Qi et al., 2016
	ALS2, LIG, MS26, MS45	Svitashev et al., 2016
	ZmAgo18a, ZmAgo18b	Char et al., 2017
	ARGOS8	Shi et al., 2017
Sorgo	DsRED2	Jiang et al., 2013
Trigo	INOX, PDS	Upadhyay et al., 2013
	TaLOX2	Shan et al., 2013
	TaMLO-A1	Wang et al., 2014c
	TaGASR7	Zhang et al., 2016
	TaDREB2, TaERF3	Kim et al., 2017
	TaGW	Liang et al., 2017
	TaEDR1	Zhang et al., 2017b

5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética

La mejora genética de cereales se ha basado mayoritariamente en el uso de germoplasma élite en los cruzamientos, lo que ha conducido a reducir el acervo genético de muchas especies. En algunas de ellas, como el trigo duro, un reducido número de genotipos se encuentran en muchos de los pedigrís de las variedades más cultivadas, lo que puede acarrear consecuencias muy negativas, como por ejemplo la vulnerabilidad genética frente a ciertos patógenos. La utilización de recursos genéticos puede ser una fuente de genes útiles para la mejora, si bien a menudo se encuentran en fenotipos poco adaptados.

Las especies de trigo se originaron en el Creciente Fértil hace unos 10.000 años. Durante su migración hacia otras zonas la selección natural incorporó características adaptativas, como la adecuación de la fecha de floración, favorables a los nuevos ambientes que se iban colonizando (Peng et al., 2011). Sin embargo, otras características favorables (como el número y peso de los granos) se incorporaron también al ser seleccionadas por los propios agricultores (Peng et al., 2011). Por todo ello, las variedades tradicionales (*landraces*) son consideradas una valiosa fuente de diversidad genética y adaptación específica a ambientes desfavorables (Lopes et al., 2015). Existen evidencias de que las variedades tradicionales de trigo pueden contribuir a incrementar la biomasa y el peso del grano, aspectos muy importantes para la adaptación a la sequía y el calor (Lopes et al., 2015). El caso del maíz es muy distinto, ya que procede de México donde fue domesticado hace unos 9.000 años (Ordás, 2016). Las variedades autóctonas de maíz se han utilizado principalmente en estudios de caracterización, para la búsqueda de resistencia a estreses, en programas de selección recurrente y para la extracción de líneas puras con las que formar las variedades híbridas cultivadas mayoritariamente en la actualidad (Ordás, 2016).

Existen numerosos recursos genéticos de cereales conservados actualmente en bancos de germoplasma localizados en muchos países. La Tabla 3 muestra el número de accesiones conservadas y utilizables para la mejora de especies del género *Triticum* (IBPGR, *International Board for Plant Genetic Resources*, <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/45742>).

Puede encontrarse amplia información sobre las variedades locales de trigo, cebada y maíz conservadas en colecciones (principalmente en España) y su potencial como

fuentes de variación en programas de mejora genética en el libro editado recientemente por Ruiz de Gallarreta et al. (2016). La utilización eficiente de recursos genéticos en programas de mejora requiere la identificación de las accesiones portadoras de alelos de interés (lo que precisa caracterizarlas fenotípica y genéticamente), así como la aplicación de métodos de mejora eficientes. En algunos casos se trata de individuos que representan líneas homogéneas, pero a menudo se trata de poblaciones heterogéneas formadas por genotipos diversos, lo que hace necesario un manejo específico que es normalmente objeto de los programas de pre-mejora. En este contexto resulta muy útil la creación de colecciones nucleares, que maximizan la variabilidad genética en un limitado número de accesiones (Ruiz et al., 2013), así como la utilización de tecnologías moleculares para la identificación de los alelos de interés y su introgresión en germoplasma adaptado. Diversos estudios llevados a cabo recientemente en trigo duro en nuestro país han permitido identificar alelos interesantes para características de calidad del grano (Nazco et al., 2014) y la aplicación de GWAS (*Genome-wide association study*) ha permitido identificar regiones cromosómicas asociadas a características de interés (Soriano et al., 2017).

Tabla 3. Recursos genéticos utilizables en la mejora de trigo, conservados en bancos de germoplasma en el mundo. Fuente: IBPGR.

Tipo de trigo	Número de accesiones
Hexaploide	266.589
Tetraploide	78.726
Diploide	11.314
<i>Triticum</i> (inespecífico)	252.530
<i>Aegilops</i> ssp.	17.748
Triticale	23.659

La conservación del patrimonio genético debe ser una prioridad estratégica para el país, por su capacidad de proporcionar la variabilidad genética necesaria para la mejora de muchas especies y garantizar así la seguridad alimentaria en el actual contexto de cambio climático.

6. Agradecimientos

Los autores agradecen a las siguientes instituciones: INIA (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria), MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente), MINECO (Ministerio de Economía



y Competitividad), Comisión Europea, Programa CERCA (Generalitat de Catalunya) e IRTA (Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias) su apoyo en la realización de los proyectos de investigación que han generado conocimiento en la temática de este capítulo.

7. Bibliografía

- Álvaro, F., Isidro, J., Villegas, D., García del Moral, L.F. and Royo, C. 2008. Breeding effects on grain filling, biomass partitioning, and remobilization in Mediterranean durum wheat. *Agron. J.* 100:361–370.
- Aparicio, N., Araus, J.L., Blanco, R. and Royo, C. 2002. Seedling development and biomass as affected by seed size and morphology in durum wheat. *J. Agric. Sci. Cambridge* 139:1–8.
- Araus, J.L., Slafer, G.A., Royo, C. and Serret, M.D. 2008. Breeding for yield potential and stress adaptation in cereals. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 27:377–412.
- Asoro, F.G., Newell, M.A., Beavis, W.D., Scott, M.P. and Jannink, J-L. 2011. Accuracy and training population design for genomic selection on quantitative traits in elite North American oats. *The Plant Genome J.* 4:132.
- Asseng, S., Ewert, F., Martre, P., Roetter, R.P., Lobell, D.B., Cammarano, D., Kimball, B.A., Ottman, M.J., Wall, G.W., White, J.W., Reynolds, M.P., Alderman, P.D., Prasad, P.V.V., Aggarwal, P.K., Anothai, J., Basso, B., Biernath, C., Challinor, A.J., De Sanctis, G., Doltra, J., Fereres, E., Garcia-Vile, M., Gayler, S., Hoogenboom, G., Hunt, L.A., Izaurralde, R.C., Jabloun, M., Jones, C.D., Kersebaum, K.C., Koehler, A.K., Mueller, C., Kumar, S.N., Nendel, C., O’Leary, G., Olesen, J. E., Palosuo, T., Priesack, E., Rezaei, E.E., Ruane, A.C., Semenov, M.A., Shcherbak, I., Stoeckle, C., Stratonovitch, P., Streck, T., Supit, I., Tao, F., Thorburn, P.J., Waha, K., Wang, E., Wallach, D., Wolf, I., Zhao, Z. and Zhu, Y. 2014. Rising temperatures reduce global wheat production. *Nat. Clim. Chang.* 5:143–147.
- Bassi, F.M., Bentley, A.R., Charmet, G., Ortiz, R. and Crossa, J. 2016. Breeding schemes for the implementation of genomic selection in wheat (*Triticum* spp.) *Plant Sci.* 242:23–36.
- Bates, B.C., Kundzewicz, Z.W., Wu, S. and Palutikof, J.P. 2008. Climate change and water. Technical paper of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva: IPCC Secretariat.

- Bayer, M.M., Rapazote-Flores, P., Ganal, M., Hedley, P.E., Macaulay, M., Plieske, J. Ramsay, L., Russell, J., Shaw, P.D., Thomas, W. and Waugh, R. 2017. Development and evaluation of a barley 50k iSelect SNP Array. *Front. Plant Sci.* 8:1792.
- Bekele, W.A., Wieckhorst, S., Friedt, W. and Snowden, R.J. 2013. High-throughput genomics in sorghum: from whole-genome resequencing to a SNP screening array. *Plant Biotechnol. J.* 11:1112-1125.
- Blum, A. 1998. Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilisation. *Euphytica* 100: 77-83.
- Blum, A. 2009. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crop Res.* 112:119-123.
- Bowman, A.F., Boumans, L.J.M. and Batjes, N.H. 2002a. Emissions of N₂O and NO from fertilized fields: Summary of available measurement data. *Global Biogeochem. Cycles*, 16:1058.
- Bowman, A.F., Boumans, L.J.M. and Batjes, N.H. 2002b. Modelling global annual N₂O and NO emissions from fertilized fields. *Global Biogeochem. Cycles* 16:1080.
- Cairns, J.E., Crossa, J., Zaidi, P.H., Grudloyma, P., Sanchez, C., Araus, J.L., Thaitad, S., Makumbi, D., Magorokosho, C., Baenziger, M., Menkir, A., Hearne, S. and Atlin, G. 2013. Identification of drought, heat, and combined drought and heat tolerant donors in maize. *Crop Sci.* 53:1335-1346.
- MoreCanè, M.A., Maccaferri, M., Nazemi, G., Salvi, S., Francia, R., Colalongo, C. and Tuberosa, R. 2014. Association mapping for root architectural traits in durum wheat seedlings as related to agronomic performance. *Mol. Breed.* 34:1629-1645.
- Casadesús, J. and Villegas, D. 2014. Conventional digital cameras as a tool for assessing leaf area index and biomass for cereal breeding. *J. Integr. Plant Biol.* 56:7-14.
- Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F.W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A.M., Francia, E., Marè, C., Tondelli, A. and Stanca, A.M. 2008. Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crop Res.* 105:1-14.
- Cavanagh, C.R., Colin, R., Chao, S., Wang, S., Huang, B.E., Stephen, S., Kiani, S., Forrest, K., Saintenac, C., Brown-Guedira, G., Akhunova, A., See, D., Bai, G., Pumphrey, M., Tomar, L., Wong, D.B., Kong, S., Reynolds, M., da Silva, M.L., Bockelman, H., Talbert, L., Anderson, J.A., Dreisigacker, S., Baenziger, S., Carter, A., Korzun, V., Morrell, P.L., Dubcovsky, J., Morell, M.K., Sorrells, M.E., Hayden, M.J. and Akhunov, E. 2013. Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for im-

- provement in hexaploid wheat landraces and cultivars. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110:8057-8062.
- Chakraborty, S. and Newton, A.C. 2011. Climate change, plant diseases and food security: an overview. *Plant Pathol.* 60:2-14.
- Challinor, A.J., Watson, J., Lobell, D.B., Howden, S.M., Smith, D.R. and Chettri, N. 2014. A meta-analysis of crop yield under climate change and adaptation. *Nat. Clim. Chang.* 27:1-5.
- Chapman, S.C., Chakraborty, S., Dreccer, M.F. and Howden, S.M. 2012. Plant adaptation to climate change opportunities and priorities in breeding. *Crop Pasture Sci.* 63:251-268.
- Char, S.N., Neelakandan, A.K., Nahampun, H., Frame, B., Main, M., Spalding, M.H., Bercraft, P.W., Meyers, B.C., Walbot, V., Wang, K. and Yang, B. 2017. An Agrobacterium-delivered CRISPR/Cas9 system for high-frequency targeted mutagenesis in maize. *Plant Biotechnol J.* 15:257-268.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P. and Pereira, J.S. 2003. Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. *Funct. Plant Biol.* 30:239-264.
- Chen, H., Xie, W., He, H., Yu, H., Chen, W., Li, J., Yu, R.B., Yao, Y., Zhang, W.H., He, Y.Q., Tang, X.Y., Zhou, F.S., Deng, X.W. and Zhang, Q.F. 2014. A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding. *Mol. Plant* 7:541-553.
- Christopher, J.T., Manschadi, A.M., Hammer, G.L. and Borrell, A.K. 2008. Developmental and physiological traits associated with high yield and stay-green phenotype in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 59:354-364.
- Comadran, J., Kilian, B., Russell, J., Ramsay, L., Stein, N., Ganai, M., Shaw, P., Bayer, M., Thomas, W., Marshall, D., Hedley, P., Tondelli, A., Pecchioni, N., Francia, E., Korzun, V., Walther, A. and Waugh, R. 2012. Natural variation in a homolog of *Antirrhinum CENTRORADIALIS* contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley. *Nat Genet* 44:1388-1392.
- COP21. 2015. 21^a Conference of Parties (COP) Climate Action and the UN Environment Programme, Paris, 30 November-6 December 2015 <http://www.cop21paris.org/>.
- COP23. 2017. 23^a Conference of Parties (COP) Climate Action and the UN Environment Programme, Bonn, 6-18 November 2017 <https://cop23.unfccc.int/es>.
- Dreccer, M.F., Barnes, L.R. and Meder, R. 2014. Quantitative dynamics of stem water soluble carbohydrates in wheat can be monitored in the field using hyperspectral reflectance. *Field Crop Res.* 159:70-80.

- Endo, A., Masafumi, M., Kaya, H. and Toki, S. 2016. Efficient targeted mutagenesis of rice and tobacco genomes using Cpf1 from *Francisella novicida*. *Scientific Reports* 6:38169.
- FAO. 2017. FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/>.
- Feng, Z.Y., Zhang, B.T., Ding, W.N., Liu, X.D., Yang, D.L., Wei, P.L., Cao, F.Q., Zhu, S.H., Zhang, F., Mao, Y.F. and Zhu, J.K. 2013. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system. *Cell Res.* 23:1229-1232.
- Fischer, R.A. and Edmeades, G.O. 2010. Breeding and cereal yield progress. *Crop Sci.* 50:S85-S98.
- Ganal, M.W., Durstewitz, G., Polley, A., Bérard, A., Buckler, E.S., Charcosset, A., Clarke, J.D., Graner, E.M., Hansen, M., Joets, J., Le Paslier, M.C., McMullen, M.D., Montalent, P., Rose, M., Schon, C.C., Sun, Q., Walter, H., Martin, O.C. and Falque, M. 2011. A large maize (*Zea mays* L.) SNP genotyping array: Development and germplasm genotyping, and genetic mapping to compare with the B73 reference genome. *PLoS ONE* 6:e28334.
- Gong, F., Wu, X., Zhang, H., Chen, Y. and Wang, W. 2015. Making better maize plants for sustainable grain production in a changing climate. *Front. Plant Sci.* 6:1-6.
- Gorjanc, G., Jenko, J., Hearne, S.J. and Hickey, J.M. 2016. Initiating maize pre-breeding programs using genomic selection to harness polygenic variation from landrace populations. *BMC Genomics* 17:30.
- Gourdji, S.M., Sibley, A.M. and Lobell, D.B. 2013. Global crop exposure to critical high temperatures in the reproductive period: historical trends and future projections. *Env. Res. Lett.* 8:024041.
- Grenier, C., Cao, T.V., Ospina, Y., Quintero, C., Chatel, M.H., Tohme, J., Courtois, B. and Ahmadi, N. 2015. Accuracy of genomic selection in a rice synthetic population developed for recurrent selection breeding. *PLoS ONE* 10:e0136594.
- Haseneyer, G., Schmutzer, T., Seidel, M., Zhou, R., Mascher, M., Schon, C.C., Taudien, S., Scholz, U., Stein, N., Mayer, K.F.X. and Bauer, E. 2011. From RNA-seq to large-scale genotyping - genomics resources for rye (*Secale cereale* L.) *BMC Plant Biology* 11:131.
- Hernández-Barrera, S., Rodríguez-Puebla, C. and Challinor, A.J. 2017. Effects of diurnal temperature range and drought on wheat yield in Spain. *Theor. Appl. Climatol.* 129:503-519.
- Hill, C.B. and Li, C. 2016. Genetic architecture of flowering phenology in cereals and opportunities for crop improvement. *Front. Plant Sci.* 7:1-23.



- Huang, M., Cabrera, A., Hoffstetter, A., Griffey, C., Van Sanford, D., Costa, J., McKendry, A., Chao, S. and Sneller, C. 2016. Genomic selection for wheat traits and trait stability. *Theor. Appl. Genet.* 129:1697-710.
- IPCC. 2003. Good practice guidance for land use, land-use change and forestry. Penman, J., Gytarsky, M., Hiraishi, T., Kruger, D., Pipatti, P., Buendia, L., Miwa, K., Ngara, T., Tanabe, K. and Wagner, F. (eds). IPCC National Greenhouse Gas Inventories Programme UNEP. Institute for Global Environmental Strategies (IGES). Japan ISBN 4-88788-003-0.
- IPCC. 2006. 2006 IPCC Guidelines for national greenhouse gas inventories, prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme, Eggleston HS, Buendia L, Miwa K, Ngara T, Tanabe, K. (eds). Published: IGES, Japan.
- IPCC. 2013. Revised supplementary methods and good practice guidance arising from the Kyoto protocol. Hiraishi, T., Krug, T., Tanabe, K., Srivastava, N., Baasansuren, J., Fukuda, M. and Troxler, T.G. (eds). Published: IPCC, Switzerland.
- Jiang, W., Zhou, H.B., Bi, H.H., Fromm, M., Yang, B. and Weeks, D.P. 2013. Demonstration of CRISPR/Cas9/sgRNA-mediated targeted gene modification in Arabidopsis, tobacco, sorghum and rice. *Nucleic Acids Res.* 41:e188.
- Kapusi, E., Corcuera-Gómez, M., Melnik, S. and Stoger, E. 2017. Heritable genomic fragment deletions and small indels in the putative ENGase gene induced by CRISPR/Cas9 in barley. *Front. Plant Sci.* 8:540.
- Kim, D., Alptekin, B. and Budak, H. 2017. CRISPR/Cas9 genome editing in wheat. *Funct. Integr. Genomics.* (In press) DOI 10.1007/s10142-017-0572-x.
- Lal, R. 2016. Beyond COP 21: potential and challenges of the “4 per Thousand” initiative. *J. Soil Water Conserv.* 71:20A-25A.
- Landjeva, S., Korzum, V. and Börner, A. 2007. Molecular markers: Actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding. *Euphytica* 156:271-296.
- Lawrenson, T., Shorinola, O., Stacey, N., Li, C., Østergaard, L., Patron, N., Uauy, C. and Harwood, W. 2015. Induction of targeted, heritable mutations in barley and *Brassica oleracea* using RNA-guided Cas9 nuclease. *Genome Biol.* 16:258.
- Li, J., Men, X., Zong, Y., Chen, K., Zhang, H., Liu, J., Li, J. and Gao, C. 2016a. Gene replacements and insertions in rice by intron targeting using CRISPR-Cas9. *Nat. Plants* 2:16139.
- Li, M., Li, X., Zhou, Z., Wu, P., Fang, M.C., Pan, X.P., Lin, Q.P., Luo, W.B., Wu, G.J. and Li, H.Q. 2016b. Reassessment of the four yield-related genes Gn1a, DEP1, GS3, and IPA1 in rice using a CRISPR/Cas9 System. *Front. Plant Sci.* 7:377.

- Li, Q., Zhang, D., Chen, M., Liang, W., Wei, J., Qi, Y. and Yuan, Z. 2016c. Development of japonica photo-sensitive genic male sterile rice lines by editing carbon starved anther using CRISPR/Cas9. *J. Genet. Genomics* 43:415-419.
- Liang, Z., Zhang, K., Chen, K.L. and Gao, C.X. 2014. Targeted mutagenesis in *Zea mays* using TALENs and the CRISPR/Cas system. *J. Genet. Genomics* 41:63-68.
- Liang, Z., Chen, K., Li, T., Zhang, Y., Wang, Y., Zhao, Q., Liu, J.X., Zhang, H.W., Liu, C.M., Ran, Y.D. and Gao, C.X. 2017. Efficient DNA-free genome editing of bread wheat using CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes. *Nat. Commun.* 8:14261.
- Liao, M., Palta, J.A. and Fillery, I.R.P. 2006. Root characteristics of vigorous wheat improves early nitrogen uptake. *Aust. J. Agric. Res.* 57:1097-1107.
- Lopes, M.S., El-Basyoni, I., Baenziger, S., Singh, S., Royo, C., Ozbek, K., Aktas, H., Ozer, E., Ozdemir, F., Manickavelu, A., Ban, T. and Vikram, P. 2015. Exploiting genetic diversity from landraces in wheat breeding for adaptation to climate change. *J. Exp. Bot.* 66:3477-3486.
- Manschadi, A.M., Hammer, G.L., Christopher, J.T. and DeVoi, P. 2008. Genotypic variation in seedling root architectural traits and implications for drought adaptation in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Plant Soil* 303:115-129.
- MAPAMA. 2017. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y medio Ambiente. <http://www.mapama.gob.es/es/cambio-climatico/temas/default.aspx>.
- Meuwissen, T.H.E., Hayes, B.J. and Goddard, M.E. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819-1829.
- Miao, J., Guo, D.S., Zhang, J.Z., Huang, Q.P., Qin, G.J., Zhang, X., Wan, J.M., Gu, H.Y. and Qu, L.J. 2013. Targeted mutagenesis in rice using CRISPR-Cas9 system. *Cell Res.* 23:1233-1236.
- Michel, S., Ametz, C., Gungor, H., Epure, D., Grausgruber, H., Löschenberger, F. and Buerstmayr, H. 2016. Genomic selection across multiple breeding cycles in applied bread wheat breeding. *Theor. Appl. Genet.* 129:1179.
- Nazco, R., Peña, R.J., Ammar, K., Villegas, D., Crossa, J. and Royo, C. 2014. Durum wheat (*T. durum* Desf.) Mediterranean landraces as sources of variability for allelic combinations at *Glu-1/Glu-3* loci affecting gluten strength and pasta cooking quality. *Gen. Res. Crop Evol.* 61:1219-1236.
- Nielsen, N.H., Jahoor, A., Jensen, J.D., Orabi, J., Cericola, F., Edriss, V. and Jensen, J. 2016. Genomic prediction of seed quality traits using advanced barley breeding lines. *PLoS ONE* 11:e0164494.



- Ordás, A. 2016. Maíz. p. 133-154. En: Ruiz de Galaretta, J.I., Prohens, J., Tierno R. (eds), Las variedades locales en la Mejora Genética de plantas. Servicio de publicaciones del Gobierno Vasco.
- Palta, J.A., Chen, X., Milroy, S.P., Rebetzke, G.J., Dreccer, M.F. and Watt, M. 2011. Large root systems: are they useful in adapting wheat to dry environments? *Funct. Plant Biol.* 38:347-354.
- Parry, M.A.J., Flexas. J. and Medrano, H. 2005. Prospects for crop production under drought: research priorities and future directions. *Ann. Appl. Biol.* 147:211-226.
- PAS 2050-1:2012. 2012. Assessment of life cycle greenhouse gas emissions from horticultural products (<https://shop.bsigroup.com/upload/Shop/Download/PAS/PAS2050-1.pdf>).
- Peng, J.H., Sun, D. and Nevo, E. 2011. Domestication evolution, genetics and genomics in wheat. *Mol. Breed.* 28:281-301.
- Pinto, R.S. and Reynolds, M.P. 2015. Common genetic basis for canopy temperature depression under heat and drought stress associated with optimized root distribution in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 128:575-585.
- Porter, J.R. and Semenov, M.A. 2005. Crop responses to climatic variation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 360:2021-2035.
- Porter, J.R., Xie, L., Challinor, A.J., Cochrane, K., Howden, S.M., Iqbal, M.M., Lobell, D.B. and Travasso, M.I. 2014. Food security and food production systems. p. 485-533. En: Field, C.B., Barros, V.R., Dokken, D.J., Mach, K.J., Mastrandrea, M.D., Bilir, T.E., Chatterjee, M., Ebi, K.L., Estrada, Y.O., Genova, R.C., Girma, B., Kissel, E.S., Levy, A.N., MacCracken, S., Mastrandrea, P.R. and White, L.L. (eds), *Climate Change 2014: Impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: Global and sectorial aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Qi, W., Zhu, T., Tian, Z., Li, C., Zhang, W. and Song, R. 2016. High-efficiency CRISPR/Cas9 multiplex gene editing using the glycine tRNA-processing system-based strategy in maize. *BMC Biotechnol.* 16:58.
- Rebetzke, G.J., Bruce, S.E. and Kirkegaard, J.A. 2005. Longer coleoptiles improve emergence through crop residues to increase seedling number and biomass in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Plant Soil* 272:87-100.

- Rebetzke, G.J., Ellis, M.H., Bonnett, D.G. and Richards, R.A. 2007. Molecular mapping of genes for coleoptile growth in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 114:1173-1183.
- Reynolds, M., Foulkes, J., Furbank, R., Griffiths, S., King, J., Murchie, E., Parry, M. and Slafer, G. 2012. Achieving yield gains in wheat. *Plant, Cell Environ.* 35:1799-1823.
- Reynolds, M.P., Quilligan, E., Aggarwal, P.K., Bansa, I.K.C., Cavalieri, A.J., Chapman, S.C., Chapotin, S.M., Datta, S.K., Duveiller, E., Gill, K.S., Jagadish, K.S.V., Joshi, A.K., Koehler, A.K., Kosina, P., Krishnan, S., Lafitte, R., Mahala, R.S., Muthurajan, R., Paterson, A.H., Prasanna, B.M., Rakshit, S., Rosegrant, M.W., Sharma, I., Singh, R.P., Sivasankar, S., Vadez, V., Valluru, R., Prasad, P.V.V. and Yadav, O.P. 2016. An integrated approach to maintaining cereal productivity under climate change. *Glob. Food Sec.* 8:9-18.
- Richards, R.A., Rebetzke, G.J., Condon, A.G. and van Herwaarden, A.F. 2002. Breeding opportunities for increasing the efficiency of water use and crop yield in temperate cereals. *Crop Sci.* 42:111-121.
- Richards, R.A., Rebetzke, G.J., Watt, M., Condon, A.G., Spielmeyer, W. and Dolferus, R. 2010. Breeding for improved water productivity in temperate cereals: phenotyping, quantitative trait loci, markers and the selection environment. *Funct. Plant Biol.* 37:85-97.
- Royo, C., García del Moral, L.F., Slafer, G., Nachit, M.N. and Araus, J.L. 2005. Selection tools for improving yield-associated physiological traits. p. 563-598. En: Royo, C., Nachit, M.N., Di Fonzo, N., Araus, J.L., Pfeiffer, W.H. and Slafer G.A. (eds), *Durum wheat breeding: Current approaches and future strategies*. Haworth Press, New York.
- Royo, C., Martos, V., Ramdani, A., Villegas, D., Rharrabti, Y. and García del Moral, L.F. 2008. Changes in yield and carbon isotope discrimination of Italian and Spanish durum wheat during the 20th century. *Agron. J.* 100:352-360.
- Royo, C. and Villegas, D. 2011. Field Measurements of canopy spectra for biomass assessment of small-grain cereals. En: *Biomass-Detection, production and usage*. Darko Matovic (ed.) InTech.
- Royo, C., Nazco, R. and Villegas, D. 2014. The climate of the zone of origin of Mediterranean durum wheat (*Triticum durum* Desf.) landraces affects their agronomic performance. *Genet. Resour. Crop Evol.* 61:1345-1358.
- Royo, C., Soriano, J.M. and Álvaro, F. 2017. Wheat: a crop in the bottom of the Mediterranean diet pyramid. En: *Mediterranean Identities - Environment, Society, Culture*. Borna Fuerst-Bjelis Ed. ISBN 978-953-51-3586-9, DOI: 10.5772/in-

- techopen.69184. Available at <https://www.intechopen.com/books/mediterranean-identities-environment-society-culture>.
- Royo, C., Ammar, K., Alfaro, C., Dreisigacker, S., Garcia del Moral, L. and Villegas, D. 2018. Effect of *Ppd-1* photoperiod sensitivity genes on dry matter production and allocation in durum Wheat. *Field Crops Res.* (en prensa).
- Ruiz, M., Giraldo, P., Royo, C. and Carrillo, J.M. 2013. Creation and validation of the Spanish durum wheat core collection. *Crop Sci.* 53:2530-2537.
- Ruiz de Gallarreta, J.I., Prohens, J. and Tierno, R. (eds). 2016. Las variedades locales en la mejora genética de plantas. Servicio de publicaciones del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz. ISBN; 978-84-457-3395-0. 480 pp.
- Sanchez-Garcia, M., Álvaro, F., Martín-Sánchez, J.A., Sillero, J., Escribano, J. and Royo, C. 2012. Breeding effects on the genotype \times environment interaction for yield of bread wheat grown in Spain during the 20th century. *Field Crops Res.* 126:79-86.
- Schaart, J.G., van de Wiel, C.C.M., Lotz, L.A.P. and Smulders, M.J.M. 2016. Opportunities for products of new plant breeding techniques. *Trends Plant Sci.* 21:5.
- Schmidt, M., Kollers, S., Maasberg-Prelle, A., Großer, J., Schinkel, B., Tomerius, A., Graner, A. and Korzun, V. 2016. Prediction of malting quality traits in barley based on genome-wide marker data to assess the potential of genomic selection. *Theor. Appl. Genet.* 129:203-213.
- Schouten, H.J., Krens, F.A. and Jacobsen, E. 2006. Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants: International regulations for genetically modified organisms should be altered to exempt cisgenesis. *EMBO Reports.* 7:750-753.
- Schulthess, A.W., Wang, Y., Miedaner, T., Wilde, P., Reif, J.C. and Zhao, Y. 2016. Multiple-trait and selection indices-genomic predictions for grain yield and protein content in rye for feeding purposes. *Theor. Appl. Genet.* 129:273-87.
- Shan, Q., Wang, Y., Li, J., Zhang, Y., Chen, K.L., Liang, Z., Zhang, K., Liu, J.X., Xi, J.J., Qiu, J.L. and Gao, C.X. 2013. Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system. *Nat. Biotechnol.* 31:686-688.
- Shi, J., Gao, H., Wang, H., Lafitte, H.R., Archibald, R.L., Yang, M., Hakimi, S.M., Mo, H. and Habben, J.E. 2017. ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. *Plant Biotechnol. J.* 15:207-216.
- Shikha, M., Kanika, A., Rao, A.R., Mallikarjuna, M.G., Gupta, H.S. and Nepolean, T. 2017. Genomic selection for drought tolerance using genome-wide snps in maize. *Front. Plant Sci.* 8:550.

- Smith, P. and Olesen, J.E. 2010. Synergies between the mitigation of, and adaptation to, climate change in agriculture. *J. Agric. Sci.* 148:543-552.
- Soriano, J.M., Malosetti, M., Rosello, M., Sorrells, M.E. and Royo, C. 2017. Dissecting the old Mediterranean durum wheat genetic architecture for phenology, biomass and yield formation by association mapping and QTL meta-analysis. *PLoS One* 12:e0178290.
- Spindel, J.E., Begum, H., Akdemir, D., Virk, P., Collard, B., Redona, E., Atlin, G., Jannink, J.L. and McCouch, S.R. 2015. Genomic selection and association mapping in rice (*Oryza sativa*): effect of trait genetic architecture, training population composition, marker number and statistical model on accuracy of rice genomic selection in elite, tropical rice breeding lines. *PLoS Genet.* 11:e1004982.
- Spindel, J.E., Begum, H., Akdemir, D., Collard, B., Redoña, E., Jannink, J.L. and McCouch, S. 2016. Genome-wide prediction models that incorporate de novo GWAS are a powerful new tool for tropical rice improvement. *Heredity* 116:395-408.
- Subira, J., Álvaro, F., García del Moral, L.F. and Royo, C. 2015. Breeding effects on the cultivar x environment interaction of durum wheat yield. *Eur. J. Agron.* 68:78-88.
- Subira, J., Ammar, K., Álvaro, F., García del Moral, L.F., Dreisigacker, S. and Royo, C. 2016. Changes in durum wheat root and aerial biomass caused by the introduction of the Rht-B1b dwarfing allele and their effects on yield formation. *Plant Soil* 403:291-304.
- Svitashev, S., Schwartz, C., Lenderts, B., Young, J.K. and Mark Cigan, A. 2016. Genome editing in maize directed by CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein complexes. *Nat. Comm.* 7: 13274.
- Thomson, M.J., Singh, N., Dwiyantri, M.S., Wang, D.R., Wright, M.H., Perez, F.A., DeClerck, G., Chin, J.H., Malitic-Layaoen, G.A., Juanillas, V.M., Dilla-Ermita, C.J., Mauleon, R., Kretschmar, T. and McCouch, S.R. 2017. Large-scale deployment of a rice 6 K SNP array for genetics and breeding applications. *Rice* 30:40.
- Thorwarth, P., Ahlemeyer, J., Bochard, A.M., Krumnacker, K., Blümel, H., Laubach, E., Knöchel, N., Cselényi, L., Ordon, F. and Schmid, K.J. 2017. Genomic prediction ability for yield-related traits in German winter barley elite material. *Theor. Appl. Genet.* 130:669-1683.
- Tian, H.L., Wang, F.G., Zhao, J.R., Yi, H.M., Wang, L., Wang, R., Yang, Y. and Song, W. 2015. Development of maize SNP3072, a high-throughput compatible SNP array, for DNA fingerprinting identification of Chinese maize varieties. *Mol. Breed.* 35:136.



- Tinker, N.A., Chao, S., Lazo, G.R., Oliver, R.E., Huang, Y., Poland, J.A., Jellen, E.N., Maughan, P.J., Kilian, A. and Jackson, E.W. 2014. A SNP genotyping array for hexaploid oat. *Plant Genome* 7.
- Trnka, M., Rötter, R.P., Ruiz-Ramos, M., Kersebaum, K.C., Olesen, J.E., Žalud, Z. and Semenov, M.A. 2014. Adverse weather conditions for European wheat production will become more frequent with climate change. *Nat. Clim. Chang.* 4:637-643.
- Tung, C.W., Zhao, K., Wright, M.H., Ali, M.L., Jung, J., Kimball, J., Tyagi, W., Thomson, M.J., McNally, K., Leung, H., Kim, H., Ahn, S.N., Reynolds, A., Scheffler, B., Eizenga, G., McClung, A., Bustamante, C. and McCouch, S.R. 2010. Development of a research platform for dissecting phenotype-genotype associations in rice (*Oryza* spp.) *Rice* 3:205.
- Upadhyay, S.K., Kumar, J., Alok, A. and Tuli, R. 2013. RNA-guided genome editing for target gene mutations in wheat. *G3* 3:2233-2238.
- Voytas, D.F. and Gao, C. 2014. Precision genome engineering and agriculture: opportunities and regulatory challenges. *PLoS Biol.* 12:429-440.
- Waines, J.G. and Ehdaie, B. 2007. Domestication and crop physiology: roots of green-revolution wheat. *Ann. Bot.* 100:991-998.
- Wang, S.C., Wong, D.B., Forrest, K., Allen, A., Chao, S.M., Huang, B.E., Maccaferri, M., Salvi, S., Milner, S.G., Cattivelli, L., Mastrangelo, A.M., Whan, A., Stephen, S., Barker, G., Wieseke, R., Plieske, J., Lillemo, M., Mather, D., Appels, R., Dolferus, R., Brown-Guedira, G., Korol, A., Akhunova, A.R., Feuillet, C., Salse, J., Morgante, M., Pozniak, C., Luo, M.C., Dvorak, J., Morell, M., Dubcovsky, J., Ganal, M., Tuberosa, R., Lawley, C., Mikoulitch, I., Cavanagh, C., Edwards, K.J., Hayden, M. and Akhunov, E. 2014a. Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90 000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotech. J.* 12:787-796.
- Wang, Y., Mette, M.F., Miedaner, T., Gottwald, M., Wilde, P., Reif, J.C. and Zhao, Y. 2014b. The accuracy of prediction of genomic selection in elite hybrid rye populations surpasses the accuracy of marker-assisted selection and is equally augmented by multiple field evaluation locations and test years. *BMC Genomics* 15:556.
- Wang, Y.P., Cheng, X., Shan, Q.W., Zhang, Y., Liu, J.X., Gao, C.X. and Qiu, J.L. 2014c. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat. Biotechnol.* 32:937-951.
- Wang, F., Wang, C., Liu, P., Lei, C., Hao, W., Gao, Y., Liu, Y.G., and Zhao, K.J. 2016. Enhanced rice blast resistance by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the ERF transcription factor gene OsERF922. *PLoS ONE* 11:e0154027.

- Wang, M., Mao, Y., Lu, Y., Tao, X. and Zhu, J.K. 2017. Multiplex gene editing in rice using the crispr-cpf1 system. *Mol. Plant* 10:1011-1013.
- Wojciechowski, T., Gooding, M.J., Ramsay, L. and Gregory, P.J. 2009. The effects of dwarfing genes on seedling root growth of wheat. *J. Exp. Bot.* 60:2565-2573.
- Xie, K.B. and Yang, Y.N. 2013. RNA-guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system. *Mol. Plant* 6:1975-1983.
- Xu, R., Li, H., Qin, R., Wang, L., Li, L., Wei, P. and Yang, J. 2014. Gene targeting using the *Agrobacterium tumefaciens*-mediated CRISPR-Cas system in rice. *Rice* 7:5.
- Xu, R., Yang, Y., Qin, R., Li, H., Qiu, C., Li, L., Wei, P.C. and Yang, J.B. 2016. Rapid improvement of grain weight via highly efficient CRISPR/Cas9-mediated multiplex genome editing in rice. *J. Genet. Genomics* 43:529-532.
- Xu, C., Ren, Y., Jian, Y., Guo, Z., Zhang, Y., Xie, C.X., Fu, J.J., Wang, H.W., Wang, G.Y., Xu, Y.B., Li, P. and Zou, C. 2017a. Development of a maize 55 K SNP array with improved genome coverage for molecular breeding. *Mol. Breed.* 37:20.
- Xu, R., Qin, R., Li, H., Li, D., Li, L., Wei, P. and Yang, J. 2017b. Generation of targeted mutant rice using a CRISPR-Cpf1 system. *Plant Biotechnol. J.* 15:713-717.
- Yagüe, M.R., Domingo-Olive, F., Bosch-Serra, A.D., Poch, R.M., Boixadera, J. 2017. Dairy cattle manure effects on soil quality: porosity, earthworms; aggregates and soil organic carbon fractions. *Land Degrad. Develop.* 27:1753-1762.
- Yu, H., Xie, W., Li, J., Zhou, F. and Zhang, Q. 2014. A whole-genome SNP array (RICE6K) for genomic breeding in rice. *Plant Biotechnol. J.* 12:28-37.
- Zhang, H., Zhang, J., Wei, P., Zhang, B., Gou, F., Feng, Z., Mao, Y., Yang, L., Zhang, H., Xu, N., Zhu, J.K. 2014. The CRISPR/Cas9 system produces specific and homozygous targeted gene editing in rice in one generation. *Plant Biotechnol. J.* 12:797-807.
- Zhang, Y., Liang, Z., Zong, Y., Wang, Y., Liu, J., Chen, K., Qui, J.L. and Gao, C. 2016. Efficient and transgene-free genome editing in wheat through transient expression of CRISPR/Cas9 DNA or RNA. *Nat. Comm.* 7:12617.
- Zhang, X., Pérez-Rodríguez, P., Burgueño, J., Olsen, M., Buckler, E., Atlin, G., Prasanna, B.M., Vargas, M., San Vicente, F. and Crossa, J. 2017a. Rapid cycling genomic selection in a multiparental tropical maize population. *G3* 7:2315-2326.
- Zhang, Y., Bai, Y., Wu, G., Zou, S., Chen, Y., Gao, C. and Tang, D. 2017b. Simultaneous modification of three homoeologs of TaEDR1 by genome editing enhances powdery mildew resistance in wheat. *The Plant J.* 91:714-724.



Capítulo V.

LA VITICULTURA FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO: ADAPTACIÓN Y ESTRATEGIAS DE MEJORA

Leonor Ruiz-García¹, Pascual Romero¹, Manuel Tornel¹, Cristina Menéndez Menéndez², Félix Cabello³ y Adrián Martínez-Cutillas^{1*}

1 Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA).

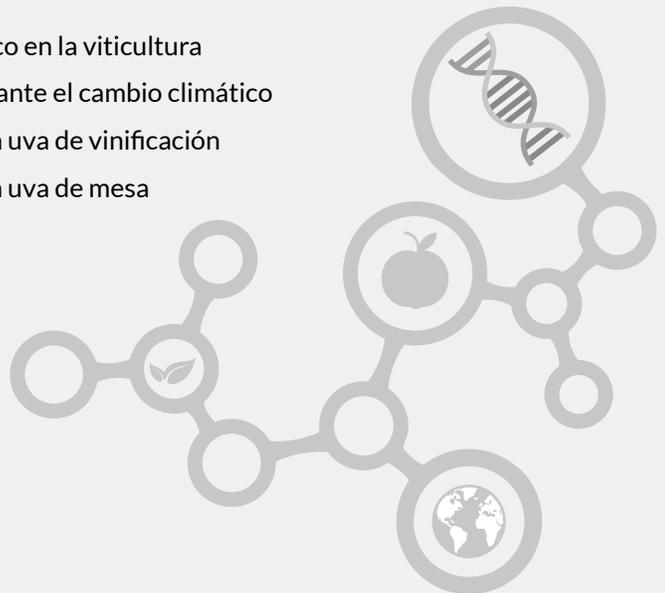
2 Instituto de Ciencias de la Vid y el Vino, ICSV (Universidad de La Rioja, CSIC, Gobierno de La Rioja).

3 Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA).

*Coordinador: amcutillas19472@gmail.com

CONTENIDO:

1. Introducción
2. Impacto del cambio climático en la viticultura
3. Objetivos de mejora en vid ante el cambio climático
 - 3.1. Objetivos de mejora en uva de vinificación
 - 3.2. Objetivos de mejora en uva de mesa





4. Biotecnología aplicada a la mejora genética de la vid
5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética de vid
 - 5.1. Historia de las colecciones de vid
 - 5.2. Objetivos de los bancos de germoplasma de vid
 - 5.3. Diversidad genética de *Vitis vinifera* en España
 - 5.4. El origen de las variedades tradicionales de vinificación
 - 5.5. La obtención de nuevas variedades
 - 5.6. Recursos fitogenéticos que debe contener una colección de vides para su uso en la mejora genética
6. Conclusiones
7. Agradecimientos
8. Bibliografía

Capítulo V.

LA VITICULTURA FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO: ADAPTACIÓN Y ESTRATEGIAS DE MEJORA

1. Introducción

La vid *Vitis vinifera* L., como ocurre con otras muchas especies, tiene su origen en Asia Menor en las estribaciones del Cáucaso. Desde allí, difundida por las distintas civilizaciones, se extendió por toda la cuenca mediterránea, y su cultivo fue especialmente impulsado por fenicios, griegos y sobre todo por los romanos. Posteriormente, con los grandes descubrimientos, se extendió al resto del mundo desde el continente europeo.

Según datos de la Oficina Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2016), a nivel mundial el cultivo de la vid alcanzó su máxima extensión en el quinquenio 1975-1980, ocupando una superficie de 10.213.000 ha. A partir de aquí inició una importante caída que la llevó a las 7.877.700 ha en los inicios del siglo XXI, para seguir después con pequeñas variaciones con una ligera tendencia hacia la disminución de la superficie, llegando a las 7.511.000 ha en el año 2015. El continente europeo ha perdido desde 1980, dos millones de hectáreas motivado por la crisis económica mundial y por los programas de arranque y reconversión del viñedo financiados por la Unión Europea. No obstante, con algo más de 4 millones de ha (el 57% del total mundial), Europa sigue siendo el gran continente productor y consumidor de vino. El resto de la superficie mundial de vid se reparte entre Asia (22%), América (13%), África (5%) y Oceanía (3%).

El cultivo de la vid en España ocupa la tercera posición en extensión, tras los cereales y el olivar. En su conjunto, el sector vitivinícola tiene una gran importancia socio-económica, tanto por los recursos generados, como por la población que trabaja en él y el papel medio-ambiental que juegan los viñedos en muchas de sus zonas de producción.

España ocupa la primera posición, a nivel mundial, en cuanto a superficie plantada de vid, seguida de Francia e Italia; juntas reúnen el 33% de la superficie mundial de vid y

algo más del 61% del total de la Unión Europea. La superficie de uva para transformación plantada en España en 2015 asciende a 954.659 ha (MAPAMA, 2016), y su evolución ha sido claramente descendente desde 1980 cuando alcanzó 1.642.622 ha. En total, desde 1980 casi se han perdido 700.000 ha de viñedo y, en mayor o menor proporción, todas las comunidades autónomas han perdido superficie, a excepción de La Rioja donde ha aumentado en 20.803 ha (66,54%) y el País Vasco que crece en 4.954 ha (57,88%). El resto de comunidades han disminuido su área de cultivo de vid, siendo la líder en superficie y en producción Castilla-La Mancha, la que más superficie ha perdido, pasando de 756.808 ha en 1980 a 473.268 (-37,47%) en 2015, aunque el porcentaje de pérdidas más elevado, descontando Asturias y Cantabria por su escasa superficie de viñedo, se da en Andalucía con un -75,67% (-77.608 ha), seguida de Aragón con -65,93% (-71.114 ha), las Comunidades de Murcia (-46.845 ha) y Madrid (-19.885 ha) que pierden un 65% cada una, y la Comunidad Valenciana que pierde 77.289 ha (-55,22%). Ligeramente por debajo del 50% de pérdidas se encuentran Castilla y León (-56.784 ha) y Cataluña (-47.900 ha).

Esta evolución se debe principalmente a los distintos programas de ayudas al arranque y reconversión del viñedo, financiados con fondos europeos. En respuesta a estos planes de reestructuración, el viñedo español ha experimentado cambios radicales: cambio en los sistemas de cultivo, de vaso a espaldera, lo que permite la poda y la recolección mecanizada; incremento del regadío, con la generalización de los sistemas de riego por goteo; y cambio varietal, que ha permitido, junto a la contratación de enólogos y la modernización de las instalaciones en las bodegas, una mejora sustancial de las producciones de uvas y vino.

El 52% de las variedades de uva para vinificación plantadas en España son variedades tintas, destacando entre ellas la variedad 'Tempranillo' que representa un 21% de la superficie total de viñedo (201.081 ha). Dentro de las variedades tintas, tras la variedad 'Tempranillo', por orden de importancia, se encuentran las variedades 'Bobal' (60.301 ha), 'Garnacha tinta' (61.372 ha), y 'Monastrell' (42.500 ha), seguidas por 'Cabernet Sauvignon', 'Syrah' y 'Garnacha tintorera' que rondan las 20.000 ha cada una. En su conjunto, estas siete variedades representan el 90% de la superficie total de variedades tintas y el 46% del total de la superficie de viñedo de nuestro país.

Dentro de las variedades blancas, en claro retroceso, la variedad 'Airén' con 215.416 ha es la más cultivada, seguida por 'Macabeo' (46.892 ha), 'Pardina' o 'Cayetana Blanca' (36.112 ha) y 'Verdejo' (18.718 ha). Estas cuatro variedades en su conjunto representan el 73% de la superficie total de variedades blancas, lo que significa un 33% del total de superficie de viñedo de nuestro país.



Dos variedades, 'Tempranillo' y 'Airén', ocupan el 43,90% de la superficie de vid cultivada en España, y las 10 variedades más cultivadas suponen el 75,76%. Actualmente hay 215 variedades inscritas en el registro oficial de variedades comerciales de vid. A nivel mundial, 35 variedades ocupan el 66% de la superficie cultivada (Anderson, 2013), a pesar de que el número de variedades disponibles supera las 2000.

El cambio climático está modificando las condiciones medioambientales en todas las zonas vitícolas del mundo. Sus efectos pueden ser positivos para los viñedos situados en zonas frías, pero para los situados en zonas cálidas y secas, como los de la mitad sur de España, las consecuencias pueden ser nefastas, tanto para el volumen de producción como para la calidad de uvas y vinos.

De entre las soluciones que se proponen para luchar contra los efectos del cambio climático, como desplazar las viñas a parcelas situadas a mayor altitud, ir a latitudes mayores, ir más al norte o buscar nuevo material vegetal que se adapte a las nuevas condiciones climatológicas, únicamente la última, tiene posibilidades de aplicarse en el sur de España y dado que ya se cultivan variedades de ciclo largo como 'Monastrell', será difícil encontrar, entre las variedades que se cultivan en otras partes del mundo, alguna que pueda adaptarse a condiciones de cultivo más duras que las actuales. Por tanto, la única salida que queda es tratar de obtener nuevas variedades, capaces de vegetar y dar uvas y vinos de calidad en esa probable difícil climatología, o evaluar las variedades minoritarias o menos extendidas como propone Wolkovich et al. (2018).

2. Impacto del cambio climático en la viticultura

Los datos climáticos a escala global desde 1950 hasta 1999, revelan un incremento de la temperatura media de 1,26 °C en las principales regiones vitivinícolas (Jones et al., 2005a). Este incremento de temperaturas puede influir de forma importante en la productividad y calidad final de la uva y el vino (Fraga et al., 2013), como se ha confirmado en la mayoría de las regiones vitivinícolas de Francia que han sufrido una reducción de la producción en los últimos 15 años (Van Leeuwen y Destrac-Irvine, 2017). Igualmente se prevé que el aumento de las temperaturas extremas pueda ocasionar un mayor riesgo de plagas y enfermedades (Fraga et al., 2013).

En Europa, el incremento de temperaturas observado ya ha producido en muchas regiones vitícolas (sobre todo en la cuenca Mediterránea) un adelanto en la fenología de la vid, tanto de la brotación, envero y maduración, como de la vendimia. Además, se ha observado una menor duración de los períodos o intervalos de crecimiento de la

planta (Jones y Davies, 2000), una mayor duración del período de postcosecha (desde la vendimia hasta la caída de hoja), y más acumulación de grados día hasta caída de la hoja (Hall et al., 2016). Concretamente, algunos viticultores en la Denominación de Origen de Bullas (sureste español) constatan en la última década adelantos de la vendimia de hasta 20 días en la variedad 'Monastrell', que es una variedad tradicionalmente tardía, confirmando lo que señalan otros estudios en otras variedades. Este adelanto en la vendimia puede provocar que la maduración de la uva tenga lugar en un período más cálido de lo habitual, lo que puede tener efectos negativos sobre la calidad de la uva y el vino (Webb et al., 2008). Así, en los últimos 30 años se ha observado en numerosas regiones vitivinícolas una clara modificación en la composición de la uva que, entre otros factores, puede ser atribuida al cambio climático. En general, las uvas contienen más azúcar, menos ácidos orgánicos (principalmente málico), un pH más alto, y un menor contenido antocianico y, por tanto, menor color (Resco et al., 2016, Van Leeuwen y Destrac-Irvine, 2017).

A nivel mundial, las perspectivas del cambio climático prevén importantes impactos en los viñedos, aunque estos serán muy diferentes en función de la localización geográfica y de las variedades, llegando en algunas regiones a exceder los umbrales óptimos de temperatura para algunas variedades, por lo que su cultivo será impracticable (Jones et al., 2005a). Hasta mediados de siglo se esperan incrementos de temperatura de 0,42 °C por década en las principales regiones vitivinícolas. Algunos estudios predicen que las áreas óptimas para el cultivo del viñedo a nivel mundial disminuirán entre un 25 y 73% en las principales regiones vitivinícolas para el año 2050, con un escenario de emisiones de CO₂ muy alto (RCP 8.5, Representative Concentration Pathways), y entre un 19% y un 62% para un escenario de emisiones de CO₂ más restrictivo (RCP 4.5) (Hannah et al., 2013). Se prevé que el calentamiento global reduzca la producción en regiones más cálidas y la incremente en regiones más frías, siempre que el agua no sea limitante.

El cambio climático proyectado para la viticultura europea, señala un continuo adelanto en el ciclo fenológico y la aparición de nuevas regiones para la producción vitivinícola (en latitudes más altas, hasta 55 °N). Se espera además un incremento de la aridez y un estrés hídrico severo, sobre todo en áreas del sur de Europa (sur de la Península Ibérica e Italia), reduciendo la producción y el crecimiento. No obstante, el incremento de CO₂ atmosférico podría compensar parcialmente los efectos producidos por la sequía en la producción y el crecimiento, sobre todo en el centro y norte de Europa (Fraga et al., 2016a). En general, los análisis realizados para la viticultura española indican que el cambio climático producirá incrementos en la variabilidad interanual del potencial vitivinícola, incrementando la irregularidad de la producción y de la cali-



dad obtenida (Resco, 2012). Según las previsiones, los mayores impactos en España se producirían en las zonas vitícolas más cálidas, como la mitad sur y sureste peninsular, y las regiones más cálidas del valle del Ebro. El calentamiento global podría causar que estos climas más calurosos asciendan en altitud paulatinamente extendiéndose hacia el interior, donde además se experimentaría un mayor incremento de temperaturas a medida que la influencia marítima sea menor. Un clima más cálido y seco modificará las zonas óptimas para el cultivo de la vid y limitará las variedades que se puedan cultivar en numerosas regiones, reduciendo en muchos casos las zonas climatológicamente óptimas para el cultivo de la vid. Asimismo, una reducción de la humedad en estos climas muy secos del sur y sureste peninsular, y en las cuencas baja y media de los ríos Duero y Ebro, incrementaría la evapotranspiración y las necesidades hídricas del viñedo y haría del riego un factor imprescindible y necesario para la sostenibilidad del viñedo (Resco, 2012; Resco et al., 2015; 2016), en un contexto de mayor competencia y escasez de recursos hídricos. Igualmente, unas temperaturas excesivamente altas en la época de maduración tendrían efectos negativos en la calidad al ocasionar un exceso de madurez y de azúcares en la uva (Fraga et al., 2013).

Por el contrario, en las zonas vitivinícolas húmedas del norte de España el cambio climático puede tener a corto y medio plazo algunos efectos positivos tales como intervalos de crecimiento de la vid más rápidos y cortos, menor riesgo de heladas y de ataques de algunas plagas y enfermedades, posibilidad de cultivar un mayor número de variedades, un incremento de las zonas óptimas para el cultivo de la vid, y un aumento en la acumulación de carbono y biomasa (debido a una mayor temperatura y fijación de CO₂) que puede llevar asociados algunos beneficios adicionales para la producción y la calidad (Resco et al., 2016).

De acuerdo con las proyecciones climáticas realizadas para Europa y España (Fraga et al., 2013; 2016a; Guiot y Cramer, 2016; Resco et al., 2016), las regiones del sur de Europa y del arco mediterráneo y sobre todo el sur y el este de la Península Ibérica, que en la actualidad son cálidas y semiáridas, serían las regiones que necesitarían realizar los mayores esfuerzos de adaptación frente al cambio climático, con mayores costes para mantener calidad y productividad, ya que estas regiones vitivinícolas son las que van a experimentar un estrés hídrico más severo y cambios de mayor magnitud (Resco et al., 2016). El aumento de la aridez y la reducción de las precipitaciones que se prevén en el futuro, van a incrementar la escasez de agua, haciendo de la disponibilidad de agua para riego un factor aún más limitante para la agricultura. Además, el incremento de la temperatura también va a generar un déficit hídrico a nivel atmosférico, que va a producir un aumento en la tasa de evaporación y que algunos estudios sitúan en un

25% superior al actual para finales del siglo XXI (Savé et al., 2017). En este escenario, el aumento de la evapotranspiración y de las necesidades hídricas de la vid va a hacer necesario el aporte de agua a través del riego para mantener la sostenibilidad del viñedo y prevenir un estrés severo en numerosas regiones vitivinícolas y denominaciones de origen del sur peninsular (Iglesias y Garrote, 2015; Resco et al., 2016).

Entre las medidas generales de adaptación y mitigación de la viticultura frente al cambio climático que se pueden proponer, se encuentran: (1) Selección de material vegetal mejor adaptado y más tolerante a las nuevas condiciones climáticas, incluyendo portainjertos, clones y variedades (Fraga et al., 2013; 2016b; Fernández-Fernández, 2015; Duchêne, 2016; Romero et al., 2016a; 2017; Brancadoro, 2017); (2) Mejora de la eficiencia en el uso del agua y de la calidad de uva mediante la aplicación de técnicas de riego deficitario (Romero et al., 2016 b, c); (3) Uso de microorganismos beneficiosos (hongos y bacterias) como estrategia para aumentar la tolerancia al déficit hídrico y la absorción de nutrientes en vid (Trouvelot et al., 2015); (4) Uso de cubiertas vegetales para la mejora del manejo del suelo del viñedo (Fraga et al., 2013; Ibañez et al., 2013; Trigo-Córdoba et al., 2015); (5) Uso de elicitores que activen los mecanismos de defensa y la síntesis de fenoles (Ruiz-García et al., 2013).

3. Objetivos de mejora en vid ante el cambio climático

El genoma de la vid es altamente heterocigótico (Adam-Blondon et al., 2004), lo que significa que un cruzamiento entre dos variedades diferentes dará lugar, en la descendencia, a multitud de individuos diferentes con una gran variabilidad genética y fenotípica (Bayo-Canha et al., 2012; Song et al., 2014). La introducción de hongos como el oídio y el mildiu, junto con la filoxera a finales del siglo XIX, fueron el catalizador para iniciar programas de mejora de vid en varios países europeos, combinando rasgos de resistencia encontrados en las especies americanas del género *Vitis* y rasgos de calidad encontrados en *Vitis vinifera* (Töpfer et al, 2011). En los últimos años, se están desarrollando a nivel internacional numerosos programas de mejora de vid, tanto en uva de vinificación como en uva de mesa (Reynolds, 2015).

Aunque pertenecientes a la misma familia y especie *Vitis vinifera* L., la uva de vino y la uva de mesa, por el aprovechamiento, el tipo de cultivo y las características de las variedades usadas en cada caso, bien podrían considerarse dos especies distintas.

En las variedades para vinificación prima el tamaño pequeño y la composición química de las bayas, mientras que en las de mesa prima el tamaño grande y el aspecto



externo; en la uva de vino la semillas juegan un papel importante como fuente de taninos en vinos tintos y en las de mesa se buscan sobre todo variedades sin semillas (apirenas) más fáciles de comer; en las primeras la textura y firmeza de la pulpa no se valoran, mientras que para las uvas de mesa es un carácter fundamental. Podríamos seguir aportando diferencias entre ambos tipos de uvas, pues las técnicas de conducción y cultivo son también muy diferentes y, por tanto, los caracteres buscados en la mejora también son diferentes. No obstante, los grandes objetivos de la mejora de la vid [(1) la adaptación de las variedades a sus zonas de cultivo; (2) la resistencia a estreses bióticos y abióticos], sí que son comunes a ambos tipos de uva aunque con sus particularidades. Por eso vamos a analizar los objetivos de la mejora por separado para la uva de vinificación y la uva de mesa.

3.1. OBJETIVOS DE MEJORA EN UVA DE VINIFICACIÓN

El mejorador de plantas, a la hora de establecer los objetivos de su programa de mejora, tiene que tener en cuenta las necesidades de todos los posibles usuarios (Acquaah, 2012), que en el caso de la uva para vinificación serían:

- del agricultor: que sean fáciles de cultivar, bien adaptadas a las condiciones ecológicas de clima y suelo de la zona, y que sean productivas y resistentes a enfermedades.
- del industrial que va a elaborar el vino: que le permita hacer un producto de calidad de sus vinos o elaborar nuevos tipos.
- de los consumidores: que se adapten a sus preferencias, que sean vinos equilibrados, con un color intenso en el caso de los tintos, y vinos frescos y afrutados en las variedades blancas.

Uno de los retos a los que se enfrenta la viticultura mundial es la adaptación a las nuevas condiciones meteorológicas que está provocando el cambio climático. El aumento de la temperatura, el incremento de los periodos de sequía y demás eventos climatológicos adversos, van a condicionar el desarrollo de la viticultura, especialmente en las latitudes más bajas, como es el caso de gran parte de la viticultura española, sobre todo la situada más abajo del paralelo que pasa por Madrid.

El ciclo vegetativo de la vid depende de la temperatura, y tan es así que el desarrollo de los distintos estados fenológicos (brotación, floración, envero y maduración), se puede predecir con modelos basados únicamente en la temperatura (Parker et al., 2011). Si no existe la posibilidad de trasladar la viticultura hacia zonas más altas, la

única posibilidad de mantener el cultivo en estas zonas cálidas es tratar de obtener variedades mejor adaptadas a las nuevas condiciones climatológicas, que tengan un ciclo vegeto-productivo más largo y que maduren en periodos menos cálidos, con el fin de que puedan conseguir parámetros de calidad adecuados para elaborar vinos de calidad. Las temperaturas altas en la época de maduración de la uva provocan una aceleración de la madurez de la pulpa y un retraso en la madurez fenólica del conjunto de la baya (Jones and Davis, 2000).

La resistencia a la sequía es otro de los caracteres buscados en los programas de obtención de nuevas variedades para zonas cálidas. La escasa disponibilidad de agua y la previsible disminución de lluvias en el futuro, obliga al mejorador a tratar de obtener variedades que, con poca disponibilidad de agua, sean capaces de producir y madurar la uva adecuadamente. La escasez de agua en muchas regiones plantea un grave problema para la sostenibilidad de su agricultura. Así, la eficiencia del uso del agua, entendida como la biomasa producida por unidad de agua transpirada, se ha convertido en un objetivo crucial en muchos programas de mejora. En el caso de la vid, Coupel-Ledru et al. (2014, 2016) han observado en genotipos descendientes del cruzamiento entre 'Syrah' y 'Garnacha', variabilidad genética en la tasa de transpiración nocturna, lo que permitiría un ahorro de agua sin disminuir el rendimiento fotosintético.

El sector vitivinícola mundial se basa en el cultivo de *Vitis vinifera* a pesar de que esta especie es muy susceptible a los ataques de oídio, mildiu y botrytis. Los tratamientos preventivos y/o curativos contra estas enfermedades suponen un coste importante de cultivo y un impacto nada despreciable sobre el medio ambiente (Sambucci et al., 2014). Además, algunos de estos hongos están generando resistencias a los fungicidas comúnmente empleados. Por tanto, la selección de variedades resistentes o la introducción de genes de resistencia en las variedades cultivadas actualmente, podría reducir los tratamientos con fungicidas y tendría un impacto favorable, tanto en lo económico como en el medio ambiente. En la mitad de la década de los 90 del siglo pasado, aparecieron en el mercado las primeras variedades que mostraban una buena resistencia en campo a oídio y mildiu. Posteriormente, con el descubrimiento de nuevos genes de resistencia y la puesta a punto de los marcadores moleculares ligados a dichos genes, la selección de híbridos resistentes se ha hecho mucho más fácil. Se busca que las nuevas variedades que salgan al mercado tengan una resistencia piramidal (Eibach et al., 2007), de manera que su genoma debe contar con al menos dos o tres genes de resistencia distintos a oídio y a mildiu, y así evitar posibles casos de superación de la resistencia por parte de los hongos patógenos.



La uva de vinificación se cultiva fundamentalmente para ser transformada en vino, por tanto, otro de los objetivos a conseguir en la mejora es la obtención de variedades capaces de producir uvas con una composición adecuada para la producción de vinos de calidad. En el caso de variedades tintas, se buscarán bayas con alto contenido en polifenoles (especialmente antocianos y taninos), con una buena acidez y la cantidad justa de azúcares. En las variedades blancas, interesarán bayas aromáticas, con un buen equilibrio entre los azúcares y la acidez.

El mejorador también tiene que tener en cuenta cuáles son las preferencias de los consumidores, ya que son ellos los que finalmente decidirán, con sus compras, que vinos son los más demandados y, por tanto, que variedades deben ser las más cultivadas.

A este respecto, el equipo de Viticultura y Enología del IMIDA inició en el año 1997 un programa de cruzamientos dirigidos, con el objetivo de obtener nuevas variedades descendientes de 'Monastrell' que, heredando de ella sus buenas cualidades, aportasen además los caracteres necesarios para afrontar los retos del futuro. Inicialmente, con el objetivo de obtener nuevas variedades capaces de dar vinos equilibrados y con alto contenido polifenólico en condiciones cálidas y que satisfagan las exigencias de los consumidores, se llevaron a cabo cruzamientos de 'Monastrell' con 'Cabernet Sauvignon', 'Syrah', 'Tempranillo', 'Barbera' y 'Verdejo'. Actualmente se cuenta con una pre-selección de 23 híbridos tintos que destacan por su elevada composición fenólica, tanto en intensidad de color como en contenido en taninos, conseguida en condiciones climáticas desfavorables muy cálidas. Los 6 híbridos blancos pre-seleccionados presentan un buen equilibrio de acidez y aromas especiados (Fernández-Fernández, 2015). Dentro de estos cruzamientos, se están seleccionando además híbridos con un bajo contenido alcohólico. Asimismo, algunos de estos híbridos presentan una fecha de maduración y vendimia más tardía que los respectivos parentales, por lo que podrían adaptarse mejor a las condiciones de sequía y altas temperaturas. Es por ello que actualmente se están evaluando 12 de estos híbridos tintos para seleccionar aquellos que presentan una mayor tolerancia a condiciones extremas de sequía (Ruiz-García, 2017). Recientemente se han iniciado los trámites en el Registro de Variedades Comerciales (RVC) para incluir tres variedades nuevas tintas (dos derivadas de 'Monastrell' x 'Cabernet Sauvignon' y una derivada de 'Monastrell' x 'Syrah') y una blanca (derivada de 'Monastrell' x 'Cabernet Sauvignon'). Y finalmente, en los últimos años se ha iniciado una línea de cruzamientos para la obtención de líneas derivadas de 'Monastrell' tolerantes a oídio y mildiu, mediante cruzamientos dirigidos de 'Monastrell' con 'Regent' y con 'Kishmish vatkana' (Ruiz-García et al., 2014).

Otra iniciativa en la misma línea se ha realizado en Rioja, donde fruto de la colaboración entre Viveros Provedo y la Universidad de La Rioja se han seleccionado 14 híbridos obtenidos a partir de cruzamientos dirigidos entre 'Tempranillo' y 'Graciano', como nuevas variedades potenciales mejor adaptadas al cambio climático. Estas selecciones están en fase de evaluación enológica (Song et al., 2014). Otros cruzamientos de 'Tempranillo' con 'Garnacha' y 'Cabernet Sauvignon' están siendo estudiados.

3.2. OBJETIVOS DE MEJORA EN UVA DE MESA

Independiente de la variedad, el género *Vitis vinifera*, al ser una planta C3, es sensible a los cambios ambientales y su fisiología y la calidad de sus bayas está directamente relacionada con el clima (Jones et al., 2005b), de manera que cambios en éste podrían afectar a su crecimiento. La modificación del régimen de precipitaciones y el aumento de la temperatura media anual son dos de los factores asociados al cambio climático que tienen un mayor impacto en la producción de uva de mesa, afectando tanto al rendimiento del cultivo como a la calidad del fruto. Los principales efectos del aumento de la temperatura en la composición de la uva están relacionados con el metabolismo primario (como por ejemplo, una degradación del equilibrio azúcar/acidez) y además con el metabolismo secundario. La mejora genética aparece como una de las estrategias más prometedoras para sostener la producción de la vid frente a las fluctuaciones del régimen de temperatura (Bigard et al., 2017).

Una solución a corto y medio plazo la podemos encontrar utilizando sistemas alternativos de cultivo, modificando los sistemas de riego, conducción, laboreo, adelantando o atrasando la fecha de poda, y con el uso de nuevos patrones, tanto en las variedades registradas actualmente como en las nuevas que se generen.

Sin embargo, la adaptación del cultivo a largo plazo necesita de la sustitución del material vegetal por nuevas variedades de vid, seleccionadas por su mejor tolerancia a las nuevas condiciones climáticas más extremas. Los programas de mejora pueden apoyarse en la diversidad genética existente dentro del género *Vitis* para obtener variedades adaptadas al cambio climático. Mediante el uso de cruzamientos dirigidos, es posible obtener nuevas variedades que ayuden a superar el reto de incrementar las producciones y la calidad de los viñedos ante un escenario de cambio climático, con una mayor eficiencia en el uso de nutrientes y agua y, por tanto, desarrollando una agricultura más sostenible.

Las características más buscadas en las nuevas variedades son: apirenia; textura crujiente; maduración temprana o tardía para ampliar calendario; poco exigentes en

técnicas de cultivo; productivas y con buen tamaño de racimos y bayas; con buena calidad organoléptica; resistentes a la manipulación y transporte; que toleren temperaturas extremas sin que se vean afectadas sus cualidades organolépticas ni su productividad; que presenten mejor resistencia a condiciones de sequía tanto por las posibles restricciones de agua como por el empeoramiento de su calidad; variedades con resistencia o tolerancia a enfermedades. Estos objetivos globales de mejora se pueden desglosar en tres categorías:

- **Objetivos técnicos:** desarrollar y seleccionar variedades productivas, tolerantes a condiciones de sequía y temperaturas muy elevadas, estables en aromas, sabor, textura y color bajo estas condiciones. Asimismo, que sean poco exigentes en tratamientos hormonales, que no necesiten poda de racimos y sin los problemas que presentan las variedades actuales debido al cambio climático (menor rendimiento, déficit de color, blandeamientos, etc.). Para asegurar la productividad debemos obtener variedades con elevado índice de fertilidad, ya que condiciones climáticas adversas antes de la floración pueden causar una pérdida de inflorescencias, pudiendo llegar la pérdida a casi la mitad de la cosecha (Kuljancic et al., 2017). Igualmente, se buscan variedades que permitan una ampliación del calendario productivo. Siguiendo estos criterios de selección, el programa de mejora de uva de mesa desarrollado por el convenio ITUM-IMIDA ha obtenido variedades como 'Itumeight', 'Itumnine', 'Itumtwelve' e 'Itumfifteen', que están adaptadas al clima seco y a las elevadas temperaturas del Levante español y que además no necesitan ninguna aplicación hormonal para adquirir el color (Tornel et al., 2017), a diferencia del resto de variedades comerciales de color que se cultivan en la zona.
- **Objetivos comerciales:** es importante estudiar la aceptación comercial de las variedades en desarrollo en los principales mercados nacionales e internacionales. La aceptación comercial pasa por ofertar variedades que se conserven bien en frío, sean resistentes al transporte y a la manipulación y que tengan una vida comercial lo más larga posible. Además, de cara al consumidor, es importante obtener variedades sin semillas, de textura crujiente, bayas de buen calibre y sabor, uniformes en color, racimos con buena apariencia y compacidad media, y con menos residuos de productos fitosanitarios.
- **Objetivos ambientales:** desde el punto de vista ambiental, es importante seleccionar variedades adaptadas a las condiciones climáticas, que sean más tolerantes a enfermedades y necesiten un menor número de tratamientos fitosanita-

rios, y que sean menos exigentes en fertilizantes y tratamientos hormonales. Así se puede ofertar al mercado un producto más natural, a la vez que se abaratan costes en fertilizantes nitrogenados y productos fitosanitarios, disminuyendo además la contaminación ambiental.

Murcia es la primera región productora de uva de mesa a nivel nacional, siendo además una de las regiones pioneras en la producción de uvas apirenas de gran calidad. Años atrás los productores cultivaban variedades autóctonas con semillas; luego el panorama varietal se transformó con las variedades apirenas extranjeras, y desde 2013 se cultivan uvas obtenidas en el programa de mejora genética ITUM-IMIDA. En la actualidad, los productores socios disponen de dieciséis nuevas variedades (ocho blancas, seis rojas y dos negras) cultivadas en una superficie que supera las 700 ha, equivalente a más del 12% de la superficie regional dedicada al cultivo de uva de mesa. Ante el interés mostrado por productores del resto del mundo, se ha enviado material vegetal para su cultivo en Chile, Perú, Brasil, Sudáfrica y Australia.

Para obtener las nuevas variedades 'Itumone', 'Itumtwo', ..., 'Itumsixteen', que destacan por la textura crujiente de sus bayas y por su elevada productividad, en los primeros cruzamientos se utilizaron como parentales variedades locales adaptadas a las condiciones agroclimáticas de la Región de Murcia (Carreño et al., 2014), donde predomina el clima mediterráneo y el clima subtropical seco, con menos de 300 mm de precipitación anual y elevadas temperaturas.

Buscando ampliar los objetivos iniciales del programa, más recientemente se añadió una nueva meta: incorporar la tolerancia a enfermedades, concretamente a oídio y mildiu, principales problemas del cultivo en Murcia y en otras zonas vitícolas. Todas las variedades de uva de mesa cultivadas en España son sensibles tanto al oídio como al mildiu (Pérez, 2012). 'Itumfifteen' es la primera variedad registrada, dentro de este programa de mejora, que presenta tolerancia al oídio además de bayas globosas de textura crujiente, agradable sabor moscatel y color rojo (Tornel y Serrano, 2016), características que junto a la fecha de producción similar a 'Flame' la convierten en una variedad muy demandada por los socios de ITUM.

4. Biotecnología aplicada a la mejora genética de la vid

La adaptación al cambio climático en vid es un carácter complejo porque engloba por una parte la adaptación a efectos directos, tales como la tolerancia a altas temperaturas y a la sequía, y por otra parte a efectos indirectos, como es la respuesta a plagas y enfer-



medades que presumiblemente cambiarán su ciclo e incidencia como consecuencia de los cambios de temperatura y de régimen de precipitaciones. El cambio climático supone un incremento en temperaturas y este incremento afecta a la fisiología de la viña, acortando su ciclo, y a la composición de la uva y el vino. En cuanto a la composición de la uva, la temperatura afecta al contenido en sólidos solubles, la acidez, el pH y el color como parámetros del vino, y al contenido en polifenoles, antocianos, taninos y flavonoles como compuestos asociados con el color, la sensación en boca y el sabor en uvas y vinos.

La obtención de nuevas variedades o patrones con un mejor rendimiento en condiciones de estrés hídrico o altas temperaturas es una de las vías posibles para sostener una viticultura de calidad en el marco del cambio climático (Duchêne, 2016). Sin embargo, este objetivo no es fácil para la vid, porque los principales caracteres diana para la mejora genética (crecimiento, rendimiento, tolerancia a estreses bióticos y abióticos, y calidad de la baya) son caracteres cuantitativos y complejos, resultantes de muchas interacciones y equilibrios entre varios procesos fisiológicos y moleculares que actúan a distintas escalas temporales, espaciales y estructurales, que además dependen de las condiciones de manejo del cultivo y de las condiciones meteorológicas (Vivin et al., 2017).

El reciente progreso en tecnologías moleculares para la secuenciación de genomas y para la genómica funcional han acercado los genes a la realidad del mejorador, pero la mayor parte de los avances se han dado para caracteres monogénicos y no ha sido extrapolable a caracteres complejos donde las relaciones entre los componentes y su control genético implican interacciones cuantitativas entre múltiples genes.

Hasta la fecha, el estudio funcional de genes de interés en vid se ha realizado principalmente con diferentes técnicas y métodos de transferencia de genes, tanto directos como indirectos (Chialva et al., 2016), y más recientemente mediante técnicas de edición de genes, utilizando nucleasas artificiales como el sistema CRISPR/Cas9 (Chialva et al., 2016; Malnoy et al., 2016; Ren et al., 2016; Wang et al., 2016; Nakajima et al., 2017). Desde la secuenciación del genoma de la vid (Jaillon et al., 2007) y el desarrollo de multitud de estudios funcionales y metabólicos, son diversas las herramientas disponibles con directa aplicación a la mejora genética. Entre ellas se incluyen los marcadores obtenidos de secuenciación, análisis de QTL (Quantitative Trait Loci) en mapas genéticos de alta densidad, estudios de asociación en base al genoma (en inglés GWA, Genome-wide association study), la transcriptómica, proteómica y metabolómica que contribuyen al conocimiento de las funciones de los genes y de las redes de genes integradas en los modelos de la biología de sistemas.

Estas herramientas son aplicables en las tres fases de la mejora: el análisis de la diversidad genética, la identificación de *loci* y genes responsables de caracteres relacionados con la adaptación al cambio climático, y la aplicación a la selección.

La selección de fuentes de variación es el primer paso en los programas de mejora. La identificación de regiones genómicas de especies silvestres que puedan ser utilizadas como fuentes de variación natural es especialmente relevante en la mejora de las resistencias a estreses. El progreso en la biotecnología y las tecnologías ómicas aplicadas a la variabilidad disponible, permiten decodificar la base genética de caracteres complejos. Los mejores alelos pueden ser seleccionados y transferidos a las variedades por cruzamiento, ingeniería genética o NPBT (New Plant Breeding Technologies) como la edición genómica anteriormente citada. Está ampliamente reconocido que en la vid, en parte debido a su propagación vegetativa, solamente una mínima parte de la amplia variabilidad presente en el germoplasma silvestre fue domesticada y como resultado de la domesticación se han perdido genes que son necesarios para incrementar la adaptación de la vid a los cambios ambientales. Distintas especies de *Vitis*, con especial énfasis en las variedades de *V. vinifera*, están siendo caracterizadas por su comportamiento frente a los principales estreses (temperaturas extremas, luz, radiación UV, sequía, y salinidad) como fuentes de *loci* y alelos para incrementar la tolerancia (Carbonell-Bejerano et al., 2016). La caracterización del germoplasma y la construcción de colecciones nucleares se ha venido realizando con marcadores microsatélites (SSR, Simple Sequence Repeats) y más recientemente con SNP (Single Nucleotide Polymorphism) (Cabezas et al., 2011; Zinelabidine et al., 2014).

Una segunda etapa en la mejora para la adaptación al cambio climático es la identificación de los *loci* que contribuyen a la variación para los caracteres que determinan esa adaptación (fenología, uso del agua, tolerancia a altas temperaturas y calidad de la baya) y entender la naturaleza y los efectos de las diferencias alélicas presentes. La naturaleza cuantitativa de la variación genética puede aprovechar el uso de estrategias de mapeo de QTL o mapeo de asociación para entender la estructura genética de los caracteres. Esta herramienta ha sido utilizada con éxito para la disección de QTL para caracteres fenológicos y de baya (revisado en Chialva et al., 2016) y ha permitido la identificación de genes candidatos en base a la secuencia anotada del genoma (Grzeskowiak et al., 2013) en una población de 'Syrah' x 'Pinot noir' y en una colección nuclear para caracteres fenológicos de 163 individuos. Entre los genes candidatos identificados en los nueve QTL mayores y menores responsables de brotación, inicio de floración, inicio y fin de envero y fertilidad, se encontraron genes pertenecientes al complejo de serina-carboxipeptidasa transferasas (SCPL), kinasa CLV1 y molécu-



las reactivas al ABA. La región del cromosoma 15 en la que se co-localizan QTL para brotación y envero, contiene genes implicados en el desarrollo del fruto, incluyendo expansinas (*VvEXPB3*, *VvEXPB4*) y enzimas involucradas en la biosíntesis y transporte de flavanoides (*VvCHS2*, *GSTZ2*). La aplicación a la mejora pasa por el estudio del polimorfismo en esos genes candidatos y su asociación con la variación en el carácter en múltiples accesiones. Eso facilitará la selección de variedades adaptadas a las condiciones atmosféricas del futuro.

La estrategia de análisis genético de QTL, junto a modelos ecofisiológicos, ha permitido identificar genes candidatos para caracteres relacionados con el inicio de distintos estadios de desarrollo en la vid. Duchêne et al. (2012) identificaron dos genes candidatos para la floración, *CONSTANs-like* y *VvFT*, y varios genes que participan en el metabolismo de ABA y azúcares, que co-localizaron con QTL para el envero. Sin embargo, la prueba definitiva de la determinación del papel de estos genes en el desarrollo requiere la identificación posicional por mapeo fino o pruebas genéticas y moleculares. El reciente desarrollo de plataformas de fenotipado (Coupel-Ladru et al., 2016), que permiten aumentar el número de individuos evaluados en una población, y la combinación con mapas de alta densidad a partir de marcadores obtenidos por re-secuenciación (Houel et al., 2015) o genotipado por secuenciación (en inglés GBS, Genotyping by sequencing) (Hyma et al., 2015), permite incrementar la resolución de los experimentos de análisis genético en poblaciones segregantes. Además, la combinación de estrategias de mapeo por QTL y por asociación (GWA), sirve para reducir los límites de los intervalos de confianza de los QTL.

Otro de los objetivos de mejora para la adaptación al cambio climático es el incremento en la eficiencia en el uso del agua (en inglés WUE, water-use efficiency), que se relaciona con 4 rasgos: la fisiología de los estomas, la respiración, la conductancia estomática y la especificidad de Rubisco para el CO_2 (Flexas et al., 2010). El incremento de la eficiencia en la transpiración es un carácter esencial en la mejora para aumentar la WUE en vid. Sin embargo, la estrecha asociación entre transpiración y fijación de carbono durante el día hace difícil reducir la pérdida de agua sin alterar la fotosíntesis y reducir el rendimiento. Coupel-Ladru et al. (2016) realizaron un análisis genético de la ratio de transpiración nocturna (*En*) y eficiencia en la transpiración (TE) en una población segregante de 'Syrah' x 'Garnacha'. Durante dos años y con la utilización de nuevas plataformas de fenotipado, evaluaron plantas en maceta en condiciones de riego y de estrés hídrico moderado. La variabilidad genética presente para *En* fue alta y estaba asociada a difusión residual a través de los estomas en ambas condiciones de cultivo. Esta variabilidad para *En* estaba asociada a 5 QTL en los cromosomas 4, 10, 15, 17 y 18 que en total explican solo el 30% de la varianza para

el carácter. Estos QTL co-localizan con QTL para eficiencia en la transpiración. Además, detectaron una correlación negativa entre *En* y el incremento en biomasa que se concreta en un QTL común para los dos caracteres en el cromosoma 4 con efectos alélicos opuestos. Estos resultados sugieren que la reducción en *En* no necesariamente reduce la productividad y puede resultar en un incremento en el crecimiento. La reducción de la transpiración nocturna es un objetivo de mejora esencial para incrementar la TE sin reducir la productividad, aunque estos resultados han de ser validados en condiciones de campo con una colección más amplia de genotipos o de fondos genéticos. La identificación de las combinaciones alélicas mejores para los *loci* implicados en condiciones de estrés hídrico va a requerir de avances en la modelización de cultivos.

En relación con la adaptación al estrés hídrico, las nuevas herramientas de la transcriptómica han permitido identificar los procesos moleculares importantes en la respuesta de la vid al estrés hídrico, que permitirán mantener la producción sin reducir la calidad. La comparación de la evolución del transcriptoma en brotes foliares en condiciones de estrés a corto y largo plazo, revelaron que los cambios en expresión génica entre las plantas sometidas a estrés y las plantas control solo fueron totalmente visibles a partir del día 12 o 16 (Cramer et al., 2007). Estos cambios se concretaron en un aumento de la abundancia de transcritos para genes implicados en la cadena de transporte de electrones de los fotosistemas I y II y varios componentes de ROS, moléculas implicadas en la protección frente a especies de oxígeno reactivo. Además, el estrés hídrico afectó a la expresión de genes implicados en el metabolismo, transporte, defensa celular y señalización, sugiriendo una amplia reorganización celular. También se dispara la expresión de genes implicados en las rutas de síntesis de ABA y etileno en condiciones de estrés. Gracias a la transcriptómica sabemos que la respuesta al estrés hídrico no es específica (Grimplet, 2016) y que muchos de los genes afectados son compartidos con otros estreses osmóticos como la salinidad (hasta un 88%), lo que indica que la selección en mejora para adaptación al estrés osmótico sería efectiva para varios caracteres. Sin embargo, en experimentos que combinan sequía y altas temperaturas, se comparten pocos cambios en la expresión de genes en hojas, siendo significativamente mayor el número de genes específicos de respuesta al calor frente a específicos de sequía (Rocheta et al., 2014). En un análisis proteómico realizado en condiciones de estrés a largo plazo, la respuesta a la sequía de la vid ocurre en dos etapas. En una primera etapa, el proteoma se orienta a adaptarse a las nuevas condiciones con predominancia de categorías funcionales que incluyen fotosíntesis, glicolisis, traducción y proteínas relacionadas con el crecimiento (metabolismo de esteroides y transporte de agua). En una segunda fase, el proteoma se dirige a sobrevivir los efectos

negativos del estrés mediante proteínas implicadas en el transporte, antioxidantes y en el metabolismo de aminoácidos y carbohidratos (Cramer et al., 2017).

La combinación de estudios de transcriptómica, proteómica y metabolómica llevados a cabo para entender la respuesta al estrés hídrico en el desarrollo y maduración de la uva en variedades tintas y blancas (Deluc et al., 2011), han destacado la importancia de la abundancia de moléculas implicadas en la ruta de los fenilpropanoides. La sequía regula los componentes del metabolismo de antocianos y, consecuentemente, incrementa el color de los hollejos y afecta también al metabolismo de aromas (Grimplet, 2016). La estrategia de defensa frente a la sequía en variedades blancas y tintas es distinta. En las primeras, la mayor parte de los transcritos están relacionados con proteínas implicadas con la fotoprotección (Deluc et al., 2011), mientras en tintas la regulación está relacionada con ABA, prolina y el metabolismo de antocianos y azúcares (Castellarin et al., 2007).

Las altas temperaturas durante la maduración afectan también a la calidad de la baya, causando un rápido descenso de la acidez, un incremento en el contenido en azúcar y una reducción en el contenido en antocianos. Se han realizado análisis genéticos de acidez (Houel et al., 2015), contenido en azúcares (Chen et al., 2015) y contenido en antocianos que han permitido identificar QTL para concentración de tartárico, pH y para el perfil antociánico, y que por tanto abren la puerta a la obtención de variedades que puedan alcanzar niveles correctos de acidez en condiciones cálidas. Sin embargo, la variabilidad para el metabolismo de los azúcares y los QTL responsables está todavía sin explorar (Duchêne, 2016).

En conclusión, las nuevas técnicas de secuenciación y las tecnologías -ómicas han desarrollado herramientas que han permitido un mayor conocimiento de la estructura genética de los caracteres de resistencia a estreses, calidad de la baya y de las interrelaciones entre ellos. Sin embargo, la ausencia de un ideotipo para las futuras condiciones climáticas y la complejidad de los caracteres hacen necesaria la utilización de modelos de cultivos capaces de integrar variantes alélicas y respuestas a datos ambientales para acelerar la mejora.

5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética de vid

5.1. HISTORIA DE LAS COLECCIONES DE VID

Los Bancos de Germoplasma de Vid se inician a finales del siglo XIX, debido a la introducción en Europa de la filoxera, proveniente de América del Norte a mediados de dicho siglo. Se estaba produciendo una importantísima pérdida de material

vegetal autóctono, como consecuencia de la desaparición de millones de hectáreas producida por el ataque del citado insecto. Por esto, para evitar la fuerte erosión genética que se estaba produciendo, se inicia la conservación e identificación de variedades autóctonas de vid en Europa y también en España. Esta conservación se realiza ya en colecciones 'ex situ' porque en esta época no existía la conciencia de conservación que hay actualmente, y solo determinados científicos apreciaron la gravedad de la situación (Cabello et al., 2003).

Actualmente sigue en vigor la necesidad de los bancos de germoplasma, aunque por motivos distintos. Hoy el riesgo viene por las nuevas plantaciones, que se están realizando principalmente con material foráneo o con plantas seleccionadas localmente que poseen muy poca variabilidad genética. Por tanto, en estos momentos el viñedo español está sufriendo nuevamente una fuerte erosión genética a nivel intravarietal, perdiéndose además muchas variedades locales que, por su menor rentabilidad, poseen poca superficie de cultivo. Es por esto que hoy se encuentran en peligro de extinción.

Según el catálogo internacional de variedades de vid (VIVC, Vitis International Variety Catalogue, <http://www.vivc.de/>), existen 130 colecciones de germoplasma vid en 45 países. En España existen 13 bancos de germoplasma de vid (Chomé et al., 2003), pero los más importantes por el número de accesiones que conservan son el Banco de Germoplasma de "El Encín" [dependiente actualmente del Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA) de la Comunidad de Madrid], y el Banco de Germoplasma del IFAPA Centro Rancho de la Merced (Jerez de la Frontera, Cádiz).

5.2. OBJETIVOS DE LOS BANCOS DE GERMOPLASMA DE VID

En general, los objetivos de los bancos de germoplasma de vid y, en particular, los del Banco de "El Encín", son la prospección, conservación, identificación y evaluación del género *Vitis*. Para ello se establecen las siguientes acciones:

- 1) Documentación de la colección y divulgación de esta información entre las instituciones, tanto públicas como privadas, que puedan estar interesadas en el material, poniéndolo a su disposición para su estudio o utilización.
- 2) Intercambio de material, bien sea material vegetal o información escrita o gráfica con otros centros, tanto nacionales como internacionales, que tengan colecciones similares, estableciéndose coordinaciones en aspectos concretos.



- 3) Formación de personal científico para la conservación y caracterización de Bancos de Germoplasma.
- 4) Colaboración en los programas de mejora genética, tanto en uva de mesa como en variedades de vinificación.

5.3. DIVERSIDAD GENÉTICA DE VITIS VINIFERA EN ESPAÑA

En España, hasta 2011, teníamos identificadas 235 variedades de vid de vinificación y mesa. De ellas, 111 eran variedades de vinificación autóctonas o de cultivo tradicional y estaban autorizadas en las Denominaciones de Origen (D.O.); había 5 variedades de vinificación que se encontraban en el Registro de Variedades Comerciales (RVC) y no estaban en D.O.; habíamos identificado 74 variedades de cultivo minoritario o en peligro de extinción; existían además 19 variedades extranjeras de cultivo autorizado en D.O. españolas, procedentes de Francia y Alemania fundamentalmente (Cabello et al., 2012). El resto eran 26 variedades de uva de mesa cultivadas en España de forma tradicional. Con el proyecto RF2012-00027-C05 “Documentación, caracterización, y racionalización del germoplasma de vid prospectado y conservado en España. Creación de una colección nuclear” hemos descubierto la presencia de 95 variedades minoritarias totalmente nuevas y diferentes de las que no existían referencias en 2011 en ninguna colección ni estadística oficial, y la mayoría de ellas han sido encontradas en varias CCAA (Muñoz Organero et al., 2016). Esto es signo de que su cultivo se dio en épocas pre-filoxéricas. Junto con estas variedades aparecieron en las labores de prospección otras 208 de las que no tenemos nombre, y que solo aparecen en una única localización en España, lo que no nos permite aventurar que sean variedades pre-filoxéricas o variedades cultivadas de forma tradicional en España.

En España, en la actualidad, los viveros solo multiplican 52 variedades tradicionales españolas de vinificación de las 116 variedades autorizadas. El problema de la diversidad genética en el cultivo de la vid en nuestros viñedos es que solo con 34 variedades tenemos el 95% de la superficie. Sin embargo, la situación es más grave, pues solo con 9 variedades abarcamos el 80% de dicha superficie.

Una solución a esta situación es potenciar las variedades de cultivo minoritario. Lo importante es definir bien que entendemos por variedad minoritaria: es aquella variedad cuya superficie de cultivo es limitada, por debajo de 1.000 ha a nivel nacional, y que se encontrase citada como variedad cultivada antes del ataque filoxérico. Para ello, según nuestro criterio, debe encontrarse citada al menos por García de los Salmones en su ponencia del Congreso Nacional de Viticultura de 1912. Las variedades mi-

noritarias son necesarias para diversificar nuestros vinos y darles unas características originales que los hagan únicos e inolvidables.

5.4. EL ORIGEN DE LAS VARIEDADES TRADICIONALES DE VINIFICACIÓN

El origen de las variedades de vinificación cultivadas en la actualidad se puede deber a diferentes causas. Las variedades más antiguas (a este grupo corresponden en mayor parte las variedades de vinificación que se cultivan en la cuenca mediterránea) proceden de hibridaciones naturales. En general se desconocen sus antecedentes, aunque actualmente mediante el empleo de técnicas moleculares (marcadores tipo microsatélite o SSR) se puede descubrir cuál es su origen, y si los parentales aún se cultivan y son conocidos. En gran parte de los casos, proceden de largos procesos de selección por parte de los viticultores a lo largo de cientos de años. De algunas de ellas existen referencias de su cultivo, al menos desde 1513 en el caso de España. Podemos citar como ejemplos: 'Alarije', 'Albillo', 'Borba', 'Cigüente', 'Palomino', 'Aragonés' ('Tempranillo'), 'Malvasía', 'Moscatel', 'Torrontés', 'Jaén', 'Hebén', 'Lairén'..., y de alguna de ellas como es el caso del 'Tempranillo' hemos descubierto sus ancestros naturales: su padre es 'Albillo Mayor' y su madre 'Benedicto' (Ibañez et al., 2012). En otros casos hemos visto que 'Hebén' es madre de un amplio número de variedades españolas, portuguesas y francesas.

Otro origen de las variedades son las mutaciones somáticas que, mediante pequeñas variaciones en el genoma, dan lugar, dentro de una variedad, a nuevas formas varietales. Esto sucede si la manifestación morfológica o agronómica del cambio producido en el genoma se diferencia claramente del original. El ejemplo más claro a nivel de variedades españolas se produce en la 'Garnacha', de la que tenemos cuatro formas varietales: 'Garnacha Tinta', 'Garnacha Blanca', 'Garnacha Gris' y 'Garnacha Peluda'. Son lo que denominamos variedades esencialmente derivadas.

Por último, el tercer origen son los híbridos artificiales, realizados por un mejorador entre individuos de la misma especie o de distintas especies. Con hibridaciones intra-específicas (entre variedades de *Vitis vinifera* L.) se han obtenido algunas de las variedades de vinificación que se cultivan fundamentalmente en el norte de Europa, como 'Müller-Thurgau', que según cierta bibliografía procede del cruce de 'Riesling' x 'Silvaner', o 'Garnacha Tintorera' (= 'Alicante H. Bouschet') que es un cruce entre 'Petit Bouschet' y 'Garnacha Tinta', realizado para obtener vinos de mucho color. Además, se han obtenido un gran número de variedades de uva de mesa donde la mejora genética no se ve tan limitada como en las variedades de vinificación. Mediante hibridaciones interespecíficas se han obtenido la mayoría de los portainjertos que se emplearon para reconstruir



el viñedo filoxerado. Los cruces realizados fueron fundamentalmente entre las especies *V. riparia*, *V. rupestris* y *V. berlandieri*, aunque también participaron otras especies como la *V. labrusca*, *V. aestivalis*, *V. linccumii*, *V. cordifolia* y *V. monticola*. Con ellas se realizaron diferentes hibridaciones hasta conseguir los caracteres que les permitían desarrollarse en las condiciones de clima y suelo europeas, manteniendo la resistencia a la filoxera. Los Híbridos Productores Directos (HPD) proceden de cruzamientos interespecíficos entre *Vitis vinifera* y otras especies del género *Vitis*. Su origen, como en el caso de los portainjertos, fue la lucha antifloxérica, buscando además plantas que produjeran uvas de calidad, fueran resistentes a enfermedades fúngicas (en especial a mildiu y oídio), que se adaptasen a suelos y climas variados (en especial la resistencia al frío), que su producción fuera alta y, por último, que produjeran vinos tintos de mucho color.

5.5. LA OBTENCIÓN DE NUEVAS VARIEDADES

La obtención de nuevas variedades para la elaboración de vino se ve muy limitada en la vitivinicultura europea, especialmente en la mediterránea, ya que se da prioridad a la tradición frente a la innovación. Esto se debe a que existen diferentes regulaciones que limitan la introducción de nuevas variedades de vinificación en las D.O. Por ello, los obtentores hasta 2006 centraban sus esfuerzos en la mejora de variedades de uva de mesa. Sin embargo, la viticultura actual debe responder a nuevas exigencias: sostenibilidad medioambiental, reducción de los costes de producción, salubridad del producto final. Y, además, convivir con nuevos retos: el cambio climático, el auge de la viticultura local, la extensión de nuevas zonas de cultivo (en algunos casos de alta montaña, donde no se había cultivado viña nunca), y el envejecimiento genético del material vegetal como consecuencia de la infección por virosis, que dificulta los procesos de certificación del material vegetal.

La Selección Clonal, propuesta en los países con tradición vitícola como España, Francia, Portugal e Italia, empieza a no servir porque los clones son muy parecidos entre sí. Hay un alto número de clones que no cubren las actuales necesidades de los viticultores y crean confusión a la hora de la elección del material al hacer nuevas plantaciones.

La solución propuesta en 2007 para esta encrucijada es antigua: los híbridos interespecíficos (HPD). El problema que tenían los HPD es que producían algo de alcohol metílico, tenían sabor 'foxé' y su perfil sensorial estaba muy alejado de las variedades de calidad que tradicionalmente eran cultivadas en los viñedos europeos.

En los años 80 del siglo XX, muchos Institutos de investigación vitivinícola trabajan en la creación de nuevos híbridos con buenas características agronómicas, y so-

bre todo enológicas. Así se obtienen variedades resistentes a mildiu y oídio, como en Alemania la 'Regent', la variedad 'Roesler' en Austria, 'Cerasón' en Checoslovaquia y 'Bianca' en Hungría. Entre 2007 y 2010 se autoriza el cultivo en Alemania, Austria y Suiza de nuevas variedades híbridas: 'Regent', 'Prior', 'Johanniter', 'Solaris' y 'Cabernet Cortis'. Esta última es un retrocruzamiento de 'Cabernet Sauvignon' x ['Merzling' x ('Saperavi Severny' x 'Muscat Ottonel')]. En 2013 se autoriza la inscripción en Italia de las variedades 'Cabernet Cortis', 'Cabernet Carbon', 'Helios', 'Johanniter', 'Prior' y 'Solaris', y en 2014 se admiten para su cultivo en la D.O.C. Trentino-Alto Adigio las variedades 'Regent', 'Bronner', 'Solaris' y 'Cabernet Cortis'.

Esta situación podría producir un cambio en la viticultura como la entendemos hoy día: una combinación de la tradición, el *terroir*, la variedad y el sistema de elaboración de cada zona. Pasaríamos entonces a trabajar la vid, como otros cultivos frutícolas u hortícolas, perdiendo el componente de *glamour* vinculado a la historia y tradición.

5.6. RECURSOS FITOGENÉTICOS QUE DEBE CONTENER UNA COLECCIÓN DE VIDES PARA SU USO EN LA MEJORA GENÉTICA

Para tener una colección con la máxima representatividad y que cubra todas las necesidades de un mejorador establecemos cuatro criterios de selección:

- 1) Variedades que representen todos los niveles de expresión del descriptor de vid de la UPOV (Union Internationale pour la Protection des Obtentions Végétales) (UPOV, 2008)
- 2) Variedades que tengan genes de resistencia al frío, oídio, mildiu.
- 3) Variedades con caracteres de calidad en uvas de vino y de mesa.
- 4) Variedades que cubran toda la diversidad de los marcadores moleculares que nos sirva para registrar una variedad.

En el primer apartado, tenemos que cubrir todos los niveles de expresión de los 45 descriptores para la caracterización morfológica de la vid de la UPOV. Según nuestros datos, se necesitan tener entre 45 y 52 accesiones para cubrir este criterio de representatividad. Entre las accesiones tienen que estar las especies *Vitis riparia*, *Vitis aestivalis*, *Vitis labrusca*, *Vitis cinerea*, *Vitis californica*, *Vitis amuriensis*, *Vitis vinifera silvestris* y *Vitis cordifolia*, los potainjertos 5BB, Rupestris de Lot, 3309 y 3006 de Couderc, 420 A, Seibel 5813, y 140 de Rugeri, las variedades de *Vitis vinifera* más características como 'Mazuelo', 'Cabernet Sauvignon', 'Albariño', 'Teta de Vaca', 'Moscatel de Grano Menudo', 'De Cuerno', 'Chardonnay', 'Cayetana Blanca', 'Tempranillo', 'Corinto', 'Sultanina', 'Ali-

cante Henri Bouschet', 'Gamay Teinturier', 'Garnacha Gris', 'Chasselas Rosa', 'Zalema', 'Bicane', 'Oscari', 'Pizutello Nero', 'Cardinal', 'Healvany', 'Rose', 'Sagiovese', 'Ohanes', 'Xarel'lo', 'Garnacha Tinta', 'Isabella', 'Monastrell', 'Gewürztraminer', 'Semillon', 'Palomino', 'Primitivo', 'Malmsey', 'Bobal', 'Meunier', y 'Graciano'.

En el segundo grupo resaltamos: la especie *Vitis amuriensis* como resistente a las heladas, las especies *Vitis rotundifolia*, *Vitis riparia Gloria de Montpellier* y los híbridos 'Regent', 'Bianca' y 'Solaris' como resistentes a oídio, y por último las especies resistentes a mildiu *Vitis cinerea* y *Vitis romanetti*.

Entre las variedades de calidad de vino y mesa, deben incluirse variedades con alto contenido polifenólico como la variedad 'Alicante Henri Bouschet', 'Deckrot', 'Cabernet Sauvignon', 'Caíño', 'Espadeiro' y 'Bruñal', variedades muy aromáticas como 'Moscatel de Grano Menudo', 'Malvasía Aromática', 'Gewürztraminer' o 'Albariño', bayas crujientes como la 'Teta de Vaca', gordas de piel fina como 'Moscatel de Grano Gordo', variedades apirenas como 'Sultanina' y 'Corintio', variedades con colores atractivos como 'Cardinal', 'Garnacha Gris', 'Chasselas Rose' o el rojo de la 'Molinera Gorda', y con formas especiales como la variedad almeriense 'De Cuerno' o la forma de dedo de la 'Black Finger'.

El cuarto grupo lo conforman las variedades que incluyen toda la variabilidad de los marcadores moleculares (SSR) que se están empleando de forma masiva en la identificación de variedades de vid. El trabajo lo ha realizado la Colección de Vassal en Francia, colección de referencia internacional para la vid (Le Cunff et al., 2008). Los ampelógrafos de la colección francesa establecieron, después de analizar 2.262 accesiones, que existían 326 alelos diferentes en 20 marcadores SSR seleccionados para barrer la máxima variabilidad posible. Estos 326 alelos son fundamentales para proyectos de mapeo asociativo en vid. Es muy aconsejable que las colecciones de mejora genética de vid tengan la lista de las 92 variedades de la "Core collection" definida por el equipo francés, para poder establecer buenas correlaciones entre el fenotipo y la diversidad de nucleótidos. Esta "Core collection" de 92 variedades posee los 326 alelos y representa variedades de Europa y la Cuenca Mediterránea, pero hay también cultivares procedentes de la región del Caspio y Oriente Medio. Además, cuenta con una menor representación de los cultivares de Europa Occidental (Península Ibérica, Francia e Italia) en comparación con el total de cultivares estudiados en la colección Vassal. Esto es debido a que el principal centro de domesticación es el Medio Oriente junto a un segundo centro de domesticación en la región del Mediterráneo occidental (Arroyo-García et al., 2006).

6. Conclusiones

El cambio climático está modificando las condiciones medioambientales en todas las zonas vitícolas del mundo. Sus efectos pueden ser positivos para los viñedos situados en zonas frías, pero las consecuencias pueden ser nefastas para los viñedos situados en zonas cálidas y secas, como los de la mitad sur de España. Actualmente existen numerosos programas de mejora de vid a nivel internacional, con unos objetivos globales de mejora comunes: adaptación de las variedades a sus zonas de cultivo y resistencia a estreses bióticos y abióticos. No obstante, los objetivos concretos dependerán de la zona de cultivo y del uso de la uva (para vinificación o para consumo en fresco). De entre las soluciones que se proponen para luchar contra los efectos del cambio climático, la búsqueda de nuevo material vegetal de calidad que se adapte a las nuevas condiciones climatológicas es la que tiene una mayor aplicación en zonas cálidas y secas.

A diferencia de otros cultivos, la vid apenas se ha aprovechado de los avances en las técnicas de mejora de plantas, para obtener nuevas variedades más productivas, mejor adaptadas a sus zonas de producción y que mejoren la calidad de los vinos. La mejora realizada hasta ahora, se ha basado fundamentalmente en la selección clonal y sanitaria de las variedades más cultivadas. Las herramientas que la biotecnología pone hoy a disposición del mejorador, el conocimiento del genoma de la vid y la diversidad de material vegetal disponible a través de los bancos de germoplasma, suponen un bagaje inestimable para abordar el gran reto que supone el cambio climático para el cultivo de la vid.

7. Agradecimientos

Los trabajos realizados por los autores de esta publicación, y que se mencionan en la misma, fueron financiados a través de proyectos por el INIA y el Ministerio de Ciencia e Innovación (referencias RF2012-00027-C05; RTA2012-00105-00-00; RTA2014-00016-C03), por el Gobierno de La Rioja (referencia FOMENTA 2008/04), y por los Fondos FEDER (80%) y la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (20%) (referencias PO07-037; FEDER1420-04).

8. Bibliografía

Acquaah, G. 2012. Principles of plant genetics and breeding (2nd Ed). Wiley-Blackwell, Oxford.

- Adam-Blondon, A.F., Roux, C., Claux, D., Butterlin, G., Merdinoglu, D. and This, P. 2004. Mapping 245 SSR markers on the *Vitis vinifera* genome: a tool for grape genetics. *Theor. Appl. Genet.* 109:1017–1027.
- Anderson, K. 2013. Which winegrape varieties are grown where?. www.adelaide.edu.au/press/titles/winegrapes/.
- Arroyo-García, R., Ruiz-García, L., Bolling, L., Ocete, R., López, M.A., Arnold, C., Ergul, A., Söylemezoglu, G., Uzun H.I., Cabello, F., Ibáñez, J., Aradhya, M.K., Atanassov, A., Atanassov, I., Balint, S., Cenis, J.L., Costantini, L., Gorislavets, S., Grandó, S., Klein, B.Y., McGovern, P.E., Merdinoglu, D., Pejic, I., Pelsy, F., Primikirios, N., Risovannaya V., Roubelakis-Angelakis, K.A., Snouss, H., Sotiri, P., Tamhankar, S., This, P., Troshin, L., Malpica, J.M., Lefort, F. and Martínez-Zapater, J.M. 2006. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. spp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms. *Mol. Ecol.* 15:3707-3714.
- Bayo-Canha, A., Fernández-Fernández, J.I., Martínez-Cutillas, A. and Ruiz-García, L. 2012. Phenotypic segregation and relationships of agronomic traits in Monastrell × Syrah wine grape progeny. *Euphytica* 186:393-407.
- Bigard, A., Tello, R., Sire, Y., Lacombe, T., Marchal, C., Dedet, S., Farnos, M., Adiveze, A., Roux, C., Veyret, M., Peros, J., Doligez, A., Ojeda, H., Boursiquot, J., Romieu, C. and Torregrosa, L. 2017. Exploring grapevine genetic diversity to feed breeding programs to sustain wine viticulture facing warming. XX GiESCO International Meeting, Mendoza, Argentina p. 224-228.
- Brancadoro, L. 2017. Nuevos portainjertos. La respuesta de VCR a las nuevas técnicas vitícolas y al cambio climático. *Enovicultura* 44:18-29.
- Cabello, F., Rodríguez-Torres, I., Muñoz-Organero, G., Rubio, C., Benito, A. y García-Beneytez S. 2003. La colección de variedades de vid de “El Encin”. Un recorrido por la historia de la ampelografía. Comunidad de Madrid. I.S.B.N. 84-451-2411-0. 205 pp.
- Cabello, F., Muñoz, G., Saiz, R., Gaforio, L., Cabezas, J.A. y De Andrés, M.T. 2012. Situación del patrimonio varietal de vid en España. *Le Bulletin de L’OIV* 85:23-47.
- Cabezas, J.A., Ibáñez, J., Lijavetzky, D., Vélez, D., Bravo, G., Rodríguez, V., Carreño, I., Jermakow, A.M., Carreño, J., Ruiz-García, L., Thomas, M.R. and Martínez-Zapater, J.M. 2011. A 48 SNP set for grapevine cultivar identification. *BMC Plant Biol.* 11:153.
- Carbonell-Bejerano, P., de Carvalho, L.C., Eiras Dias, J.E., Martínez-Zapater, J.M. and Amâncio, S. 2016. Exploiting *Vitis* genetic diversity to manage with stress. p. 347-

380. En: H. Gerós, M. M. Chaves, H. Medrano Gil, S. Delrot (eds.). Grapevine in a Changing Environment: A Molecular and Ecophysiological Perspective. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.
- Carreño, J. and Tornel, M. 2014. New table grape varieties obtained in the breeding program by ITUM-IMIDA in Spain. 7th International Table Grape Symposium, Mildura, Australia.
- Castellarin, S.D., Pfeiffer, A., Sivilotti, P., Degan, M., Peterlunger, E. and Di Gaspero, G. 2007. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant, Cell and Environment*, 30:1381-1399.
- Chen, J., Wang, N., Fang, L-C., Liang, Z-C., Li, S-H. and Wu, B-H. 2015. Construction of a high-density genetic map and QTLs mapping for sugars and acids in grape berries. *BMC Plant Biol.* 15:28.
- Chialva, C., Eichler, E., Muñoz, C. and Lijavetzky, D. 2016. Development and use of biotechnology tools for grape functional analysis. pp 75-101. In: Morata A, Loira I (eds) *Grape and wine biotechnology*, InTech, doi:10.5772/64915.
- Chomé, P., Sotés, V., Benayas, F., Cayuela, M., Hernández, M., Cabello, F., Ortiz, J., Rodríguez, I. and Chaves, J. 2003. Variedades de vid. Registro de variedades comerciales. MAPA. Madrid.
- CoupeL-Ledru, A., Lebon, E., Christophe, A., Doligez, A., Cabrera-Bosquet, LL., Péchier, P., Hamard, P., This, P. and Simonneau, T. 2014. Genetic variation in a grapevine progeny (*Vitis vinifera* L. cvs Grenache×Syrah) reveals inconsistencies between maintenance of daytime leaf water potential and response of transpiration rate under drought. *J. Exp. Bot.* 65:6205–6218.
- CoupeL-Ledru, A., Lebon, E., Christophe, A., Gallo, A., Gago, P., Pantin, F., Doligez, A. and Simonneau, T. 2016. Reduced nighttime transpiration is a relevant breeding target for high water-use efficiency in grapevine. *PNAS* 113:8963-8968.
- Cramer, G.R., Ergül, A., Grimplet, J., Tillet, R.L., Tattersall, E.A.R., Bohlman, M.C., Vincent, D., Sonderegger, J., Evans, J., Osborne, C., Quilici, D., Schlauch, K.A., Schooley, D.A. and Cushman, J.C. 2007. Water and salinity stress in grapevines: Early and late changes in transcript and metabolite profiles. *Funct. Integr. Genomics* 7:111-134.
- Cramer, G.R., Hopper, D.W., Quilici, D.R., Woolsey, R.J., Cushman, J.C., Vincent, D., Van Sluyter, S.C., George, I. and Haynes, P.A. 2017. Early and late responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to water deficit: a proteomics perspective. *Acta Hort.* 1157: 263-272.



- Deluc, L.G., Decendit, A., Papastamoulis, Y., Mérillon, J.-M., Cushman, J.C. and Cramer, G.R. 2011. Water deficit increases stilbene metabolism in cabernet sauvignon berries. *J. Agric. Food Chem.* 59:289-297.
- Duchêne, E., Butterlin, G., Dumas, V. and Merdinoglu, D. 2012. Towards the adaptation of grapevine varieties to climate change: QTLs and candidate genes for developmental stages. *Theor. Appl. Genet.*, 124:623-635.
- Duchêne, E. 2016. How can grapevine genetics contribute to the adaptation to climate change?. *OENO One* 50:113-124.
- Eibach, R., Zyprian, E., Welter, L. and Töpfer, R. 2007. The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. *Vitis* 46:120-124.
- Fernández-Fernández, J.I. 2015. Nuevos cruces de Monastrell por Cabernet Sauvignon, Syrah, Tempranillo y Barbera. Resumen de las cosechas 2013-2014. XXVI Jornada de transferencia de resultados de investigación. Grupo de Investigación en Viticultura y Enología IMIDA – UMU. Jumilla (<http://www.imida.es/documents/>).
- Flexas, J., Galmés, J., Gallé, A., Gulías, J., Pou, A., Ribas-Carbo, M., Tomàs, M. and Medrano, H. 2010. Improving water use efficiency in grapevines: Potential physiological targets for biotechnological improvement. *Aust. J. Grape Wine Res.* 16:106-121.
- Fraga, H., Malheiro, A.C., Moutinho-Pereira, J. and Santos, J.A. 2013. An overview of climate change impacts on European viticulture. *Food and Energy Security* 1:94-110.
- Fraga, H., García de Cortazar, I., Malheiro, A.C. and Santos, J.A. 2016a. Modelling climate change impacts on viticultural yield, phenology and stress conditions in Europe. *Glob. Change Biol.* 22:3774-3788.
- Fraga, H., Santos, J.A., Malheiro, A.C., Oliveira, A.A., Moutinho-Pereira, J. and Jones, G.V. 2016b. Climatic suitability of portuguese grapevine varieties and climate change adaptation. *Int. J. Clim.* 36:1-12.
- Grimplet, J. 2016. Grapevine abiotic and biotic stress genomics and identification of stress markers. p. 320-346. En: H. Gerós, M. M. Chaves, H. Medrano Gil, S. Delrot (eds.). *Grapevine in a Changing Environment: A Molecular and Ecophysiological Perspective*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.
- Grzeskowiak, L., Costantini, L., Lorenzi, S. and Grandi, M.S. 2013. Candidate loci for phenology and fruitfulness contributing to the phenotypic variability observed in grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 126:2763-2776.
- Guiot, J. and Cramer, W. 2016. Climate change: The 2015 Paris agreement thresholds and Mediterranean basin ecosystems. *Science* 354:465-468.

- Hall, A., Matthews, A.J. and Holzapfel, B.P. 2016. Potential effect of atmospheric warming on grapevine phenology and post-harvest heat accumulation across a range of climates. *Int. J. Biometeorol.* 60:1405-1422.
- Hannah, L., Roehrdanz, P., Ikegami, M., Shepard, A., Shaw, M., Tabo, G., Zhi, L., Marquet, P. and Hijmans, R. 2013. Climate change, wine, and conservation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110:6907-6912.
- Houel, C., Chatbanyong, R., Doligez, A., Rienth, M., Foria, S., Luchoire, N., Roux, C., Adivèze, A., Lopez, G., Farnos, M., Pellegrino, A., This, P., Romieu, C. and Torregrosa, L. 2015. Identification of stable QTLs for vegetative and reproductive traits in the microvine (*Vitis vinifera* L.) using the 18 K Infinium chip. *BMC Plant Biol.* 15:205.
- Hyma, K.E., Barba, P., Wang, M., Londo, J.P., Acharya, C.B., Mitchell, S.E., Sun, Q., Reisch, B. and Cadle-Davidson, L. 2015. Heterozygous mapping strategy (HetMappS) for high resolution genotyping-by-sequencing markers: A case study in grapevine *PLoS ONE* 10 (8): e0134880.
- Ibáñez, J., Muñoz-Organero, G., Hasna Zinelabidine, L., de Andrés, M.T., Cabello, F. and Martínez-Zapater, J.M. 2012. Genetic origin of the grapevine cultivar Tempranillo. *Am. J. Enol. Vitic.* 63: 549-553.
- Ibáñez, S., Andreu-Lahoz, L., García, S., Giralt-Vidal, L.L., Mirás-Avalos, J.M., Ramírez, P., Sagues, A. and Yuste, J. 2013. Guía de mantenimiento del suelo en viñedo mediante cubiertas vegetales. 27ª Reunión del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología. Publicación del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio ambiente, 71pp.
- Iglesias, A. and Garrote, L. 2015. Adaptation strategies for agricultural water management under climate change in Europe. *Agric. Water Manag.* 155:113-124.
- Jaillon, O., Aury, J.-M., Noel, B., Policriti, A., Clepet, C., Casagrande, A., Choisne, N., Aubourg, S., Vitulo, N., Jubin, C., Vezzi, A., Legeai, F., Huguency, P., Dasilva, C., Horner, D., Mica, E., Jublot, D., Poulain, J., Bruyère, C., Billault, A., Segurens, B., Gouyvenoux, M., Ugarte, E., Cattonaro, F., Anthouard, V., Vico, V., Del Fabbro, C., Alaux, M., Di Gaspero, G., Dumas, V., Felice, N., Paillard, S., Juman, I., Moroldo, M., Scalabrin, S., Canaguier, A., Le Clainche, I., Malacrida, G., Durand, E., Pesole, G., Laucou, V., Chatelet, P., Merdinoglu, D., Delledonne, M., Pezzotti, M., Lecharny, A., Scarpelli, C., Artiguenave, F., Pè, M.E., Valle, G., Morgante, M., Caboche, M., Adam-Blondon, A.-F., Weissenbach, J., Quétier, F. and Wincker, P. 2007. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* 449:463-467.

- Jones, G.V. and Davis, R.E. 2000. Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. *Am. J. Enology Vitic.* 51:249–261.
- Jones, G.V., White, M.A., Cooper, O.R. and Storchmann, K. 2005a. Climate change and global wine quality. *Climatic Change* 73: 319–343.
- Jones, G.V., Duchene, E., Tomasi, D., Yuste, J., Braslavskaja, O., Schultz, H. and Guimberteau, G. 2005b. Changes in European winegrape phenology and relationships with climate. XIV International GESCO Viticulture Congress, Geisenheim, Germany, p. 54-61.
- Kuljancic, I., Bozovic, N., Korac, N., Medic, M. and Ivanisevic, D. 2017. How and when potential yield disappeared. XX GiESCO International Meeting, Mendoza, Argentina p. 618-622.
- Le Cunff, L., Fournier-Level, A., Laucou, V., Vezzulli, S., Lacombe, T., Adam-Blondon, A.F., Boursiquot, J.M. and This, P. 2008. Construction of nested genetic core collections to optimize the exploitation of natural diversity in *Vitis vinifera* L. subsp. sativa. *BMC Plant Biology* 8: 31.
- Malnoy, M., Viola, R., Jung, M.H., Koo, O.J., Kim, S., Kim, J.S., Velasco, R. and Kanchiswamy, C.N. 2016. DNA-free Genetically edited grapevine and apple protoplast using CRISPR/Cas9 ribonucleoproteins. *Front. Plant Sci.* 7:1904.
- MAPAMA. 2016. Encuesta sobre superficies y rendimientos cultivos (ESYRCE). www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/esyrce/
- Muñoz Organero, G., Cabello, F., Serrano, M.J., Cretazzo, E., Pérez, J.A., Gogorcena, Y., Giménez, R., Andreu, L.J., Usón, J.J., Mené, R., Loureiro, M.D., Bota, J., Medina, C.E., González, F.J., Gutiérrez, M.R., Martínez, J.1, Chacón, J.L. 1, Mena, A., Fernández González, M., Rubio, J.A., Arranz, C., Yuste, J., Domingo, C., Puig, S., Puig, A., González, J.B., Diaz, E., Ribas, A., Rego, F., Martínez, M.C., Santiago, J.L., Ruiz García, L., Martínez Cutillas, A., Fuentes Denia, A., Cibriain, J.F., Sagüés, A., Suberviola, J., Royo, J.B., Santesteban, L.G., Urrestarazu, J., Lauzirika, M., Fernández González, M., Aragonés, A., Ibáñez, J., Baroja, E., Pérez-Sotés, J.L., Salazar, D., López, I., Velázquez, B., Chirivella, C., García, J., Jiménez, C., Ortiz, J.M., Martínez, R., De la Rosa, L. and De Andrés M.T. 2017. Nuevas prospecciones y recuperación de variedades antiguas de vid en España. p. 25-32. En: MAGRAMA (ed.), 30ª Reunión del Grupo de Trabajo de Experimentación en Viticultura y Enología. MAGRAMA, Madrid.
- Nakajima, I., Ban, Y., Azuma, A., Onoue, N., Moriguchi, T., Yamamoto, T., Toki, S. and Endo, M. 2017. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis in grape. *PLoS ONE* 12(5): e0177966.

- OIV. 2016. Coyuntura vitivinícola mundial 2015: evoluciones y tendencias. <http://www.oiv.int/es/actualidad-de-la-oiv/>.
- Parker, A., García de Cortázar-Atauri, I., van Leeuwen, C. and Chuine, I. 2011. General phenological model to characterise the timing of flowering and véraison of *Vitis vinifera* L. Aust. J. Grape Wine Res. 17:206–216.
- Pérez, J.L. 2012. Plagas y enfermedades del viñedo en La Rioja. Gobierno de La Rioja, nº 64.
- Ren, C., Liu, X., Zhang, Z., Wang, Y., Duan, W., Li, S. and Lianga, Z. 2016. CRISPR/Cas9-mediated efficient targeted mutagenesis in Chardonnay (*Vitis vinifera* L.). Sci. Rep. 6:32289.
- Resco, P. 2012. El impacto del cambio climático en el viñedo en España. Informe Dpt. De Economía y Ciencias Sociales Agrarias. ETSIA, UPM, 70 pp.
- Resco, P. 2015. Viticultura y Cambio Climático en España: Vulnerabilidad en las distintas regiones y estrategias de adaptación frente al desarrollo de nuevas políticas. Tesis doctoral, ETSIA, UPM, 194 pp.
- Resco, P., Iglesias, A., Bardají, I. and Sotés, V. 2016. Exploring adaptation choices for grapevine regions in Spain. Reg. Environ. Change 16:979-993.
- Reynolds, A.G. 2015. Grapevine Breeding Programs for the Wine Industry: Traditional and Molecular Techniques. Woodhead Publishing, Oxford.
- Rocheta, M., Becker, J.D., Coito, J.L., Carvalho, L. and Amâncio, S. 2014. Heat and water stress induce unique transcriptional signatures of heat-shock proteins and transcription factors in grapevine. Funct. Integr. Genomics 14:135-148.
- Romero, P., Fernández-Fernández, J.I., Botía, P. and Navarro, J.M. 2016^a. Efecto del portainjerto de vid en la calidad fenólica de la uva y su relación con las propiedades organolépticas del vino Monastrell. Actas de horticultura. II Jornadas del Grupo de Viticultura de la SECH. pp. 69-74.
- Romero, P., Fernández-Fernández, J.I., Gil Muñoz, R. and Botía, P. 2016^b. Vigour-yield-quality relationships in long-term deficit-irrigated wine grapes grown under semiarid conditions. Theor. Exp. Plant Physiol. 28:23-51.
- Romero, P., García-García, J., Fernández-Fernández, J.I., Gil Muñoz, R., del Amor, F. and Martínez-Cutillas, A. 2016^c. Improving berry and wine quality attributes and vineyard economic efficiency by long-term deficit irrigation practices under semiarid conditions. Sci. Hort. 203:69-85.

- Romero, P., Martínez-López, F.J., Robles, J.M. and Botía, P. 2017. Producción y eficiencia en el uso del agua de la variedad Monastrell cultivada sobre diferentes portainjertos en el sureste español. VIII Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas 7-9 Junio 2017, Coimbra, Portugal. Libro de resúmenes, p.112.
- Ruiz-García, Y., Romero-Cascales, I., Bautista-Ortín, A.B., Gil Muñoz, R., Martínez-Cutillas, A. and Gómez-Plaza, E. 2013. Increasing bioactive phenolics in grapes. Response of six monastrell grape clones to two different elicitor treatments. *Am. J. Enol. Vitic.* 64:459-465.
- Ruiz-García, L., Fuentes, A., García, B., Martínez, J.A. and Martínez-Cutillas A. 2014. Selection of new fungal disease resistant grapevine varieties generated by crosses involving Monastrell. Proceedings of the 7th International Workshop on Grapevine Downy and Powdery Mildew. Vitoria-Gasteiz, June 30th-July 4th. p. 155-156.
- Ruiz-García, L. 2017. Estrategias de adaptación de la Monastrell al cambio climático. II Jornadas empresas, asociaciones y cooperativas del sector vitícola. Centro Socio-cultural Roque Baños. Jumilla, 17 enero.
- Sambucci, O.S., Alston, J.M. and Fuller, K.B. 2014. The costs of powdery mildew management in grapes and the value of resistant varieties: Evidence from California. Robert Mondavi Institute. Center for Wine Economics. <http://vinecon.ucdavis.edu/publications/CWE1402.pdf>
- Savé, R., Grau, B., Funes, I., Biel, C., Aranda, X., Borrás, G., Mauri, F., Vicente-Serrano, S., Zabalza-Martínez, J., Pla, E., Pascual, D., Cantos, G., Matéu, R. and De Herralde, F. 2017. La movilidad del cultivo de la vid, ¿una adaptación al cambio climático?. *Enovicultura* n° 45, Marzo-Abril, 20-29.
- Song, S., del Mar Hernández, M., Provedo, I. and Menéndez, C.M. 2014. Segregation and associations of enological and agronomic traits in Graciano × Tempranillo wine grape progeny (*Vitis vinifera* L.). *Euphytica*, 195: 259-277.
- Töpfer, R., Hausmann, L., Harst, M., Maul, E., Zyprian, E. and Eibach, R. 2011. New horizons for grapevine breeding. *Methods Temperate Fruit Breeding. Fruit, Veg. Cereal Sci. Biotech.* 5:79-100.
- Tornel, M. y Serrano, M. 2016. Nuevas variedades de uva de mesa tolerantes a enfermedades. Simposio Internacional de Viticultura y Enología, Hermosillo, México.
- Tornel, M., Mellado, C. and Serrano, M. 2017. New table grape varieties of ITUM-IMIDA breeding program for the world. XX GiESCO International Meeting, Mendoza, Argentina p. 284-287.

- Trigo-Córdoba, E., Bouzas-Cid, Y., Orriols-Fernández, I., Díaz-Losada, E. and Mirás-Avalos, J.M. 2015. Influence of cover crop treatments on the performance of a vineyard in a humid region. *Span. J. Agric. Res.* 13:1-12.
- Trouvelot, S., Bonneau, L., Redecker, D., Tuinen, D.V., Adrian, M. and Wipf, D. 2015. Arbuscular mycorrhiza symbiosis in viticulture: a review. *Agro. Sus. Dev.* 35:1449-1467.
- UPOV. 2008. Grapevine. UPOV code: *Vitis*. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability.
- Van Leeuwen, C. and Destrac-Irvine, A. 2017. Modified grape composition under climate change conditions requires adaptations in the vineyard. *OENO ONE* 51:147-154.
- Vivin, P., Lebon, É., Dai, Z., Duchêne, E., Marguerit, E., De Cortazar-Atauri, I.G., Zhu, J., Simonneau, T., Van Leeuwen, C., Delrot, S. and Ollat, N. 2017. Combining ecophysiological models and genetic analysis: A promising way to dissect complex adaptive traits in grapevine. *OENO One*, 51: (2), pp. 181-189.
- Wang, Y., Liu, X., Ren, C., Zhong, G.Y., Yang, L., Li, S. and Liang, Z. 2016. Identification of genomic sites for CRISPR/Cas9-based genome editing in the *Vitis vinifera* genome. *BMC Plant Biol.* 16:96.
- Webb, L.B., Whetton, P.H. and Barlow, E.W.R. 2008. Climate change and wine grape quality in Australia. *Clim. Res.* 36:99-111.
- Wolkovich, E.M., García de Cortázar-Atauri, I., Morales-Castilla, I., Nicholas K.A. and Lacombe, T. 2018. From Pinot to Xinomavro in the world's future wine-growing regions. *Nat. Clim. Change* 8:29-37.
- Zinelabidine, L.H., Laiadi, Z., Benmehaia, R., Gago, P., Boso, S., Santiago, J.L., Haddioui, A., Ibáñez, J., Martínez-Zapater, J.M. and Martínez, M.C. 2014. Comparative ampelographic and genetic analysis of grapevine cultivars from Algeria and Morocco. *Aust. J. Grape Wine Res.* 20:324-333.



Capítulo VI.

LOS CÍTRICOS FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO. ESTRATEGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA LA MEJORA DEL CULTIVO

**Carlos De Ollas, Rosa M. Pérez-Clemente, Aurelio Gómez-Cadenas,
Vicent Arbona***

Ecofisiología i Biotecnologia. Dept. Ciències Agràries i del Medi Natural,
Universitat Jaume I, Castelló de la Plana.

*Coordinador: arbona@uji.es

CONTENIDO:

1. El cambio climático: una nueva amenaza de proporciones inimaginables para la agricultura mundial
2. Respuestas fisiológicas y metabólicas de cítricos al estrés medioambiental
 - 2.1. Estrés hídrico
 - 2.2. Estrés por encharcamiento del sustrato
 - 2.3. Estrés por elevadas temperaturas





- 2.4. Combinación de estreses abióticos
- 2.5. Percepción del estímulo ambiental y transducción de señales
- 2.6. Regulación hormonal de las respuestas al estrés ambiental
- 3. Estrategias moleculares para la mejora de la tolerancia al estrés abiótico
 - 3.1. Mutagénesis in vitro y selección de variantes tolerantes al estrés
 - 3.2. Transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens*
 - 3.3. Técnicas de edición genética
- 4. Conclusiones
- 5. Agradecimientos
- 6. Bibliografía

Capítulo VI.

LOS CÍTRICOS FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO. ESTRATEGIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA LA MEJORA DEL CULTIVO

1. El cambio climático: una nueva amenaza de proporciones inimaginables para la agricultura mundial

El cambio climático constituye uno de los principales retos para la agricultura cuya incidencia amenaza limitar la producción agraria y pone en serio riesgo el abastecimiento alimentario de la creciente población mundial. En este contexto, varias condiciones ambientales adversas actúan simultáneamente afectando los ciclos del cultivo, distintos procesos metabólicos tales como la fotosíntesis y la respiración para, finalmente, afectar al rendimiento agrícola. Además, las alteraciones en la distribución de los patrones térmicos y de pluviosidad son especialmente perjudiciales durante los períodos reproductivos de los cultivos ya que pueden afectar a la fertilidad gamética, incurriendo en rendimientos más bajos e incluso el fallo completo del cultivo (Teixeira et al., 2013). Por un lado, las temperaturas elevadas contribuyen a incrementar la evapotranspiración, lo cual puede intensificar el ciclo hidrológico, provocando frecuentes inundaciones acompañadas de fuertes escorrentías que afectan a la composición y estructura del suelo resultando en cambios en la fertilidad y distribución de humedad del sustrato. En estas condiciones, también se pronostican incrementos en la composición gaseosa del aire, especialmente en lo que se refiere al CO_2 y el ozono (O_3), que pueden afectar al rendimiento de la planta. La mayoría de las respuestas vegetales a las amenazas ambientales individuales son bien conocidas y su efecto se puede predecir en gran medida. Sin embargo, el efecto de la incidencia simultánea de varios factores de estrés apenas se ha abordado debido a la gran complejidad del estudio (Lobell y Gourji, 2012; Zandalinas et al., 2016a; Zandalinas et al., 2017a).

Las plantas están frecuentemente expuestas a múltiples condiciones de estrés cuyos efectos varían dependiendo de la intensidad o duración de la condición adversa aunque, en general, la aplicación simultánea de distintos estreses suele tener resultados más severos que cuando éstos inciden de forma individual. En cítricos, la sequía y las elevadas temperaturas inducen respuestas fisiológicas antagónicas pero cuando se aplican de forma combinada se observa una respuesta intermedia, aunque este comportamiento no puede ser extrapolado a nivel metabólico y molecular (Zandalinas et al., 2016a; b).

2. Respuestas fisiológicas y metabólicas de cítricos al estrés medioambiental

2.1. ESTRÉS HÍDRICO

Una de las mayores limitaciones a la producción agraria global es la escasez de agua (Verslues et al., 2006). La limitación del suministro de agua afecta al crecimiento y desarrollo vegetal y en especial de los cítricos y perjudica gravemente los procesos reproductivos que conducen a reducciones en el rendimiento (Ben-Hayyim y Moore, 2007). En la mayoría de las regiones productoras de cítricos el período de sequía ocurre durante el verano coincidiendo con la fase II del crecimiento de los frutos. Un suministro de agua inadecuado durante esta etapa provoca reducciones en el tamaño y calidad del fruto y también resulta en importantes pérdidas de rendimiento debido a la abscisión del fruto (Romero et al., 2006).

Una de las respuestas primarias (y más críticas) de las plantas a las limitaciones en el abastecimiento de agua es el cierre estomático para prevenir la pérdida de agua por transpiración seguida de un aumento de la relación de biomasa entre la raíz y la parte aérea. Sin embargo, en períodos prolongados de estrés hídrico, la capacidad de las plantas de equilibrar la captación de agua y la transpiración a través de la apertura estomática y la modificación del potencial hídrico foliar disminuye y, por lo tanto, es necesario desarrollar otras estrategias para asegurar la supervivencia (Santana-Vieira et al., 2016) que se pueden resumir en: 1) inducción de mecanismos fisiológicos y de desarrollo dirigidos a mantener el crecimiento y desarrollo durante el período de sequía, conocido como *evitación de la deshidratación*, y 2) inducción de la acumulación de osmolitos y otras respuestas protectoras (por ejemplo, actividad enzimática antioxidante, etc..) orientada a asegurar la supervivencia (Santana-Vieira et al., 2016), conocida como *tolerancia a la deshidratación*. En períodos cortos de estrés, la estrategia de evitación parece ser suficiente para combatir los efectos negativos, aunque ante pe-

ríos prolongados, la estrategia de tolerancia parece ser más eficiente (Allario et al., 2012; Santana-Vieira et al., 2016; Souza et al., 2017). A este respecto, variedades de naranja dulce injertadas sobre patrones autotetraploides de lima Rangpur presentaron mayor tolerancia a la sequía junto con niveles hormonales elevados, acumulación de solutos, baja conductancia estomática, etc... (Allario et al., 2012).

Tal y como se ha comentado, el estrés hídrico (y también otros estrés abióticos) causa el cierre estomático con el fin de minimizar la pérdida de agua por transpiración. Al mismo tiempo, la asimilación neta de CO₂ se ve reducida lo cual afecta al transporte electrónico entre fotosistemas y finalmente provoca un aumento de la incidencia del estrés oxidativo. Por otra parte, a medida que disminuye la disponibilidad de agua en el suelo, se reduce la capacidad de las plantas para mantener una absorción de agua adecuada y, para evitar la deshidratación, las plantas inducen procesos de osmorregulación acumulando sustancias osmóticamente activas tales como sales inorgánicas y osmolitos compatibles (el aminoácido prolina y distintos carbohidratos no metabolizables como la rafinosa, entre otros) (Gimeno et al., 2009). Al acumular sustancias osmóticamente activas, las plantas reducen su potencial osmótico endógeno para mantener la absorción y el suministro continuos de agua a los tejidos. Aunque todas las especies de cítricos cultivadas son sensibles a la sequía, existen algunos genotipos con cierta habilidad para tolerar el estrés hídrico como la lima Rangpur (*Citrus limonia*) que, siguiendo una estrategia de evitación, mantiene el crecimiento en condiciones de sequía, otras especies como la mandarina (*Citrus reticulata*) desarrolla una estrategia de tolerancia centrada en la supervivencia de las plantas (Allario et al., 2012; Santana-Vieira et al., 2016). Ambas estrategias de tolerancia están asociadas a cambios fisiológicos, hormonales y/o morfológicos (variaciones en la elasticidad de la pared celular, aumento de la acumulación de osmolitos y hormonas, control estomático mejorado, etc...) que contribuyen la supervivencia en suelos que presentan potenciales matriciales muy bajos (Gonçalves et al., 2016).

2.2. ESTRÉS POR ENCHARCAMIENTO DEL SUSTRATO

En muchas regiones productoras de cítricos, como la costa mediterránea, Florida, Brasil o China, las lluvias intensas son frecuentes ya menudo inundan los paisajes agrícolas (Arbona et al., 2009; Rodríguez-Gamir et al., 2011). El anegamiento del suelo provoca un rápido descenso del O₂ así como otras alteraciones de la química del suelo tales como cambios en el potencial redox, alteración en el estado de oxidación de diferentes constituyentes del suelo y cambios en la microbiota presente en la rizosfera (Schreiber

et al., 2011). Las especies de cítricos cultivadas no poseen ninguna adaptación específica al encharcamiento; sin embargo existen notables diferencias en la capacidad de tolerar inundaciones prolongadas entre los distintos genotipos (García-Sánchez et al., 2007; Arbona y Gómez-Cadenas, 2008; Arbona et al., 2009). Otras especies cultivadas, como el tomate (Vidoz et al., 2016) el arroz (Hattori et al., 2011) o la soja (Shimamura et al., 2014), experimentan modificaciones del desarrollo destinadas a soportar el período de inundación: formación de raíces adventicias, alargamiento de tallo y brotes y desarrollo de aerénquima. La respuesta de los parámetros de intercambio gaseoso al encharcamiento está directamente asociada a la tolerancia relativa de cada genotipo (Vu y Yelenosky, 1991; Vu y Yelenosky, 1992; Arbona et al., 2009). Así pues, los genotipos de cítricos más tolerantes al encharcamiento radical como citrange Carrizo o Citrumelo CPB-4475 mantienen los parámetros de intercambio gaseoso en valores control durante gran parte del período de estrés (Arbona et al., 2009) y, además muestran una inducción eficiente de las defensas antioxidantes. Otros genotipos, como el mandarino Cleopatra que presenta un comportamiento sensible a la inundación, sufren una fuerte represión de la fotosíntesis junto a la depresión de las actividades enzimáticas antioxidantes y un incremento del daño oxidativo (Arbona et al., 2008; Hossain et al., 2009).

A diferencia de la sequía, la inundación no induce abscisión foliar, pero largos períodos de encharcamiento dan lugar a la aparición de síntomas típicos de este estrés: amarilleamiento del nervio central de la hoja, enrollamiento de las hojas y marchitez progresiva (Arbona et al., 2009, 2008). La progresión y severidad del efecto fisiológico del encharcamiento parece depender de la temperatura del suelo y habitualmente se ve exacerbada por altas temperaturas (Otero et al., 2015). La reducción de los parámetros de intercambio gaseoso parece estar asociada a la acidificación de la savia del xilema inducida por la inundación del suelo y la regulación negativa de las acuaporinas PIP (Rodríguez-Gamir et al., 2011). Junto con los efectos enumerados anteriormente, el anegamiento también altera la composición química y microbiológica de los suelos con un impacto evidente en el rendimiento de la planta. Se ha reportado que las inundaciones del suelo no sólo reducen la asimilación de carbono, sino que también perjudican la absorción y asimilación de nitrógeno junto con una marcada reducción de la biomasa de las raíces (Martínez-Alcántara et al., 2012). Además, la distribución de carbono también cambia tras la imposición del estrés por inundación a largo plazo: las raíces presentan una fuerte reducción del contenido en almidón mientras que los carbohidratos solubles (fructosa, glucosa, etc.) aumentan su concentración, lo que sugiere la movilización de reservas de carbohidratos para suministrar a tejidos con elevada demanda (Martínez-Alcántara et al., 2012). La asimilación de micronutrientes también se ve profundamente

afectada por las inundaciones del suelo. Por ejemplo, la absorción de hierro en los cítricos anegados se redujo en un 50% (Martínez-Cuenca et al., 2015).

La literatura disponible sobre alteraciones metabólicas inducidas por inundación del sustrato es escasa, especialmente en cítricos. En otros cultivos, como la soja, varias publicaciones describen los cambios en los perfiles de metabolitos en respuesta al encharcamiento (Komatsu et al., 2013; Nakamura et al., 2012). En la soja, la inundación del suelo aumenta los niveles de piruvato y lactato de origen fermentativo junto con la concentración de diferentes intermediarios del Ciclo de Krebs (TCA). La reducción de la disponibilidad de O_2 en suelos inundados inhibe la fosforilación oxidativa y la generación de NADH a partir de acetyl-CoA en el TCA, el ATP se produciría principalmente mediante fosforilación a nivel de sustrato durante la glicólisis (Nakamura et al., 2012). En cítricos, la investigación se ha centrado en la producción de metabolitos secundarios utilizando genotipos con diferente tolerancia a la inundación. La tolerancia al encharcamiento se ha asociado a respuestas metabólicas tales como la acumulación de prolina y ácidos hidroxicinámicos. Siguiendo una aproximación metabolómica de carácter no dirigido, se observó una respuesta metabólica más intensa en el genotipo sensible, mandarina Cleopatra, que en el tolerante, citrange Carrizo (Arbona et al., 2015; Argamasilla et al., 2013), concluyendo que la inducción del metabolismo secundario tiene como objetivo paliar los daños producidos por el estrés y no constituiría un mecanismo de tolerancia.

2.3. ESTRÉS POR ELEVADAS TEMPERATURAS

La producción citrícola se localiza principalmente en áreas climáticas tropicales y subtropicales cuyas temperaturas máximas suelen superar los $30^{\circ}C$ de media durante la época estival. Aunque los cítricos pueden adaptarse bien a las elevadas temperaturas (Veste et al., 2000), a largo plazo éstas pueden afectar la actividad fotosintética e incluso otros aspectos relacionados con el desarrollo vegetativo y reproductivo.

A corto plazo, las elevadas temperaturas provocan un incremento de la transpiración con el objetivo de refrigerar la superficie foliar y así mantener la integridad de la maquinaria fotosintética. Este incremento de la transpiración, se correlaciona con una mayor apertura estomática y menores niveles de ácido abscísico (ABA) (Zandalinas et al., 2016a). Cuando se compara la tolerancia a las elevadas temperaturas de distintos genotipos de cítricos, es posible identificar diferencias considerables. En particular, el patrón citrange Carrizo resulta más tolerante a altas temperaturas que el mandarina Cleopatra. El incremento de la temperatura hasta $40^{\circ}C$ induce la brotación masiva en

ambos genotipos, pero al poco tiempo, el más sensible experimenta un decaimiento rápido de los brotes que se marchitan y ennegrecen (Zandalinas et al., 2016a).

La sensibilidad al tratamiento térmico también se refleja en la capacidad fotosintética, ya que el rendimiento cuántico máximo del PSII (F_v/F_m) así como su eficiencia fotosintética (Φ_{PSII}) disminuyeron significativamente en respuesta al tratamiento de elevadas temperaturas. El funcionamiento defectuoso del sistema fotosintético se asocia también a un incremento del daño oxidativo (Zandalinas et al., 2016a). En este sentido, el incremento en la concentración de compuestos secundarios con posible acción antioxidante está vinculada a la sensibilidad a las elevadas temperaturas en cítricos (Zandalinas et al., 2016b).

2.4. COMBINACIÓN DE ESTRESSES ABIÓTICOS

El impacto del cambio climático derivado del incremento del CO_2 atmosférico sobre la temperatura media terrestre, según el Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático 2014 (IPCC 2014; <http://www.ipcc.ch/>), se traducirá en un incremento de la temperatura media de $2^\circ C$ a finales del s. XXI. Esto contribuirá además a que el patrón de precipitaciones sea errático, variando la distribución de pluviosidad a nivel mundial. En definitiva, la conjunción de todos estos factores provocará una variación drástica de los perfiles climáticos que afectará indudablemente a la producción agraria (Zandalinas et al., 2017a). En muchas especies vegetales, y especialmente en los cítricos, la combinación de distintos estreses ambientales genera una situación potencialmente más dañina que los estreses aplicados de forma separada (Rivero et al., 2014; Suzuki et al., 2014; Zandalinas et al., 2017b).

En cítricos, la aplicación simultánea de altas temperaturas y sequía provoca una alteración de los balances hídricos como resultado del antagonismo de las respuestas fisiológicas frente a sequía o elevadas temperaturas (Zandalinas et al., 2016a). La capacidad de modular de forma adecuada el cierre estomático para equilibrar la toma de CO_2 y la transpiración parece ser clave en la tolerancia de los agrios a la combinación de sequía y calor.

2.5. PERCEPCIÓN DEL ESTÍMULO AMBIENTAL Y TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES

Las señales ambientales son percibidas por proteínas receptoras y se transmiten secuencialmente a los elementos de señalización para responder a diversas señales externas y de desarrollo de una manera proporcional e integrada. Las quinasas similares a receptores (RLK) constituyen una amplia familia génica en plantas que

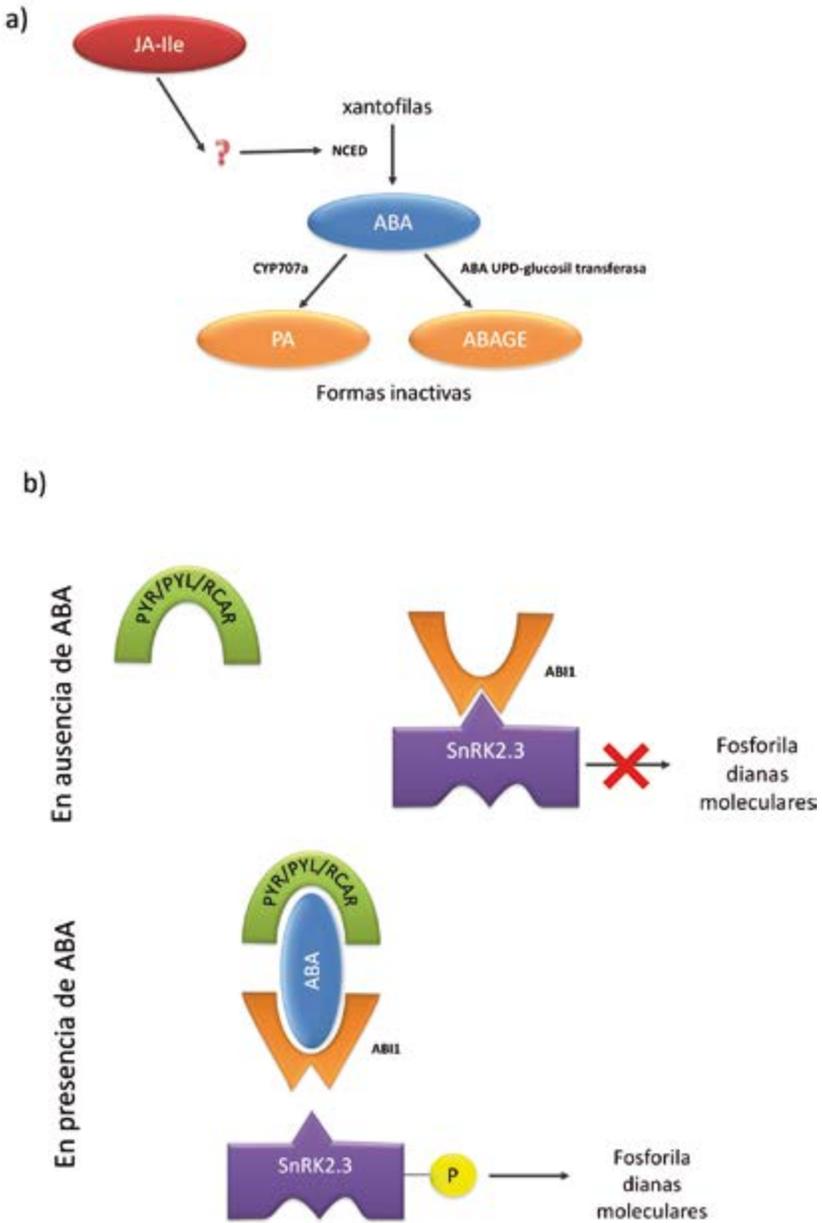


Figura 1. Principales eventos en la ruta de biosíntesis del ácido abscísico (ABA) e interacción con la señalización mediada por jasmonatos (a) y ruta de transducción de la señal mediada por ABA, implicación de receptores PYR/PYL/RCAR, protein fosfatasa 2C (e.g. ABI1) y SnRKs (SnRK2.3 o OST1).

codifican proteínas caracterizadas por la presencia de un dominio citosólico Ser/Thr quinasa implicado en la transducción de señales mediante fosforilación directa de las proteínas diana (Osakabe et al., 2013). Las RLKs tienen un papel clave en la integración de los estímulos ambientales y la señalización hormonal (Shiu y Bleeker, 2001; Diévar y Clark, 2004) y pueden ser consideradas importantes reguladores de los procesos de crecimiento y desarrollo como mecanismo adaptativo al estrés ambiental (Marshall et al., 2012). Otro grupo de receptores son las histidin quinasa (HKs) que fosforilan sus dianas moleculares sobre residuos de His/Asp de forma similar a los mecanismos bicomponente de transducción de señal bacterianos. Estos sistemas, poseen un dominio con actividad fosfotransferasa que transfiere un grupo fosfato desde el sensor a la proteína diana. Estos receptores están ubicados en la propia membrana plasmática o en la cara citosólica del retículo endoplasmático y están implicados en el control de diferentes procesos biológicos, incluyendo respuestas a diferentes estreses abióticos (Jeon et al., 2010; Pham et al., 2012; Tran et al., 2010; Wohlbach et al., 2008).

En la integración del estímulo ambiental para la elaboración de la respuesta fisiológica, las hormonas vegetales juegan un papel central permitiendo a las plantas adaptarse a los entornos cambiantes mediante la modificación del patrón de crecimiento, el desarrollo y/o la distribución de nutrientes (Peleg y Blumwald, 2011).

Los resultados experimentales han demostrado claramente que la interacción entre diferentes rutas de señalización hormonal es clave en la integración de distintos estímulos ambientales y el ajuste de la respuesta fisiológica de forma proporcional a la severidad del estrés. En cítricos, se han descrito varios ejemplos de interacción hormonal con el ABA: con el etileno y con los jasmonatos (Figura 1a), en los dos casos en respuesta a estrés hídrico.

2.6. REGULACIÓN HORMONAL DE LAS RESPUESTAS AL ESTRÉS AMBIENTAL

El ABA es una hormona vegetal con un papel clave en la respuesta al estrés abiótico en muchas especies vegetales y también en cítricos: en respuesta a sequía (Gómez-Cadenas et al., 1996) inundación (Arbona y Gómez-Cadenas, 2008) o a elevadas temperaturas (Zandalinas et al., 2016a; b).

La conductancia estomática está regulada por el ABA cuya acción puede ser local o sistémica (Gonzalez-Guzman et al., 2012). La señalización mediada ABA opera a través de la unión de la hormona vegetal sesquiterpénica a receptores PYR/PYL/RCAR y fosfatasa PP2C como co-receptores. En ausencia de ABA, las fosfatasa

PP2C (por ejemplo ABI2, HAB1, HAI1, etc...) interactúan con las Sucrose non fermenting-Related Kinases 2 (SnRK2s) inhibiendo su actividad; cuando hay ABA el medio, se une a los receptores PYR/PYL/RCAR que secuestran las PP2C liberando a las SnRK2s de su inhibición (Figura 1b). La función de estas proteínas es la fosforilación de varias dianas moleculares incluyendo canales iónicos de membrana (por ejemplo SLAC1), TFs, etc... The SLOW ANION CHANNEL 1 (SLAC1) es un canal aniónico de tipo S localizado en la membrana plasmática de las células guarda del estoma (Geiger et al., 2011). La señalización mediada por ABA inhibe la actividad ABI1 que a su vez es un regulador negativo de la actividad OST1 (SnRK2.3) localizada aguas arriba de SLAC1. Además del ABA, otras sustancias pueden actuar como reguladores del cierre estomático como las especies reactivas de oxígeno producidas en respuesta al estrés abiótico que inhiben la actividad de las PP2Cs (ABI1 y ABI2) de forma independiente al ABA (Suzuki y Mittler, 2006).

El ABA también regula la acumulación de prolina, aunque este osmolito compatible se acumula también de forma independiente al ABA (De Ollas et al., 2015b). A este respecto, aunque la acumulación de prolina ha sido ampliamente reconocida como una respuesta metabólica clave frente a una presión osmótica externa elevada, por sí misma parece no ser suficiente para asegurar una mayor tolerancia al estrés (García-Sánchez et al., 2007; De Ollas et al., 2015b) y la inducción de otras respuestas fisiológicas tales como un mayor cierre estomático o la modificación de la elasticidad de la pared celular son necesarias (Moura et al., 2010).

Otra respuesta bien conocida de los cítricos a la privación del agua es la abscisión de los órganos aéreos incluyendo hojas, tallos y frutos. El mecanismo por el cual los estreses abióticos desencadenan la abscisión de órganos vegetales involucra al etileno como la principal hormona vegetal que dispara este proceso (Estornell et al., 2013; Merelo et al., 2017). En condiciones de estrés hídrico severo, las raíces de los cítricos acumulan ABA y ácido 1-aminociclopropano 1-carboxílico (ACC), el precursor metabólico del etileno. Al mismo tiempo, la sequía reduce el flujo basípeto de xilema y, por tanto, el transporte de ACC a los tejidos aéreos. Eventualmente, tras el riego el flujo xilemático se restablece y todo el ACC acumulado en las raíces es transportado a las hojas donde se oxida a etileno por acción de la ACC oxidasa, desencadenando la abscisión de los órganos aéreos (Gómez-Cadenas et al., 1996). La aplicación de inhibidores de la producción o percepción de etileno (aminoetoxivinilglicina y tiosulfato de plata, respectivamente) así como la inhibición de la biosíntesis de ABA tiene como resultado la reducción de la tasa de abscisión foliar (Gómez-Cadenas et al., 1996). En conjunto, estos resultados indican que el etileno es la hormona que desencadena la abscisión de

hojas y frutos en condiciones de estrés hídrico y que el ABA participa como mediador entre la percepción del estrés y la producción y liberación de etileno (Gómez-Cadenas et al., 1996). Recientemente, se ha puesto de manifiesto la participación del ácido jasmónico (JA), una oxilipina, en la regulación del estrés hídrico en cítricos. La cinética de acumulación de JA y ABA en cítricos sometidos a diferentes condiciones de estrés abiótico sugirió que el JA podría actuar aguas arriba de la señal del ABA, constituyendo así un mediador adicional entre la percepción del estrés y la regulación de la respuesta fisiológica (Arbona y Gómez-Cadenas, 2008; De Ollas et al., 2013). Utilizando alternativamente inhibidores de la biosíntesis de JA y ABA, se demostró que se requería una acumulación de JA temprana y transitoria para inducir la acumulación de ABA. Sin embargo, esta respuesta sólo se observó en las raíces, mientras que en las hojas, no se pudo llegar a una conclusión clara (De Ollas et al., 2013). Posteriormente, y con el uso de mutantes de *Arabidopsis thaliana* que presentan alteraciones en la biosíntesis o percepción de ABA o jasmonato, se confirmó y amplió el conocimiento sobre el papel regulador de los jasmonatos aguas arriba del ABA, permitiendo la identificación de JA-Ile como molécula de señalización que mediaba la percepción del estrés y la acumulación de ABA (Figura 1a). Además, también se confirmó la especificidad tisular de esta respuesta (De Ollas et al., 2015a).

En otros tipos de estrés, como causado por la inundación del sustrato, se ha podido constatar la implicación de esta hormona en la regulación de la respuesta fisiológica de cítricos (Arbona y Gómez-Cadenas, 2008; Arbona et al., 2017) del mismo modo que en condiciones de estrés por temperaturas elevadas acompañadas o no de sequía (Zandalinas et al., 2016a). Tanto el estrés por inundación como el estrés por elevadas temperaturas tiene un efecto negativo sobre la acumulación de ABA en raíces induciendo fuertemente la degradación de esta hormona. En respuesta a elevadas temperaturas, en la parte aérea también se observa un descenso en los niveles de ABA relacionado con una mayor apertura estomática y la necesidad de refrigeración foliar (Zandalinas et al., 2016a). En el caso de la inundación, la reducción de los niveles radicales de ABA parece ser una respuesta específica al estrés pero no se conoce todavía que proceso fisiológico regula (Arbona et al., 2017).

La familia de factores de transcripción (TF) de tipo ABF/AREB/ABI5 (ABA-binding factor/ABA-binding protein/ABA Insensitive 5) se activa a través de la fosforilación mediada por SnRK2s (Fujita et al., 2011; Furihata et al., 2006) e iniciada por ABA o distintos estímulos de estrés. Aparte de estos TFs, se ha podido constatar que otros TFs de tipo MYB podrían ser mediadores importantes de la expresión



génica dependiente de ABA (Stracke et al., 2001) o integrando distintas rutas de señalización hormonal (Denekamp y Smeekens, 2003; Mengiste et al., 2003; Persak y Pitzschke, 2014).

Hay otros TF implicados en respuestas de tolerancia al estrés abiótico como los NAC o WRKY (Chen et al., 2012; Nakashima et al., 2012; Vives-Peris et al., 2017). Las proteínas codificadas muestran una región N-terminal conservada que posee cinco motivos de unión al DNA, mientras que el extremo C más difuso contiene dominios que funcionan como activadores de la transcripción (Kleinow et al., 2009; Puranik et al., 2012). Recientemente, se ha caracterizado una extensa familia de WRKYs en cítricos en cuanto a su respuesta a distintos estímulos hormonales y de estrés (Vives-Peris et al., 2017).

3. Estrategias moleculares para la mejora de la tolerancia al estrés abiótico

Un desafío actual en la fisiología vegetal aplicada es la producción de cultivos tolerantes al estrés abiótico capaces de soportar la escasez de agua, la elevada temperatura ambiente y concentración de CO₂ y otras señales ambientales (Suzuki et al., 2014). Este aspecto se está haciendo cada vez más crítico ya que la población mundial y la demanda de alimentos están aumentando constantemente, mientras que la tierra disponible para la agricultura se está reduciendo progresivamente. En la actualidad, más de mil millones de personas carecen de alimentos suficientes para sostener la vida y se espera que para 2050 el suministro de alimentos tenga que duplicarse para satisfacer la demanda, calculado sobre la base de los cultivos básicos de cereales (maíz, trigo y arroz), (Reynolds et al., 2012). Las estrategias moleculares principales para inducir la tolerancia al estrés en los cultivos son: a) mutagénesis aleatoria *in vitro* seguida de la selección de variantes, b) identificación de genes que confieran tolerancia al estrés en especies modelo y/o variedades silvestres y transferirlos a las especies cultivadas mediante transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* y c) modificación dirigida de la expresión génica mediante edición genómica con CRISPR/Cas9 (Jia y Wang, 2014).

3.1. MUTAGÉNESIS IN VITRO Y SELECCIÓN DE VARIANTES TOLERANTES AL ESTRÉS

Éste es probablemente el enfoque más clásico por el cual las variaciones en la secuencia de DNA son inducidas aleatoriamente por agentes físicos o químicos: radiaciones gamma o etilmetil sulfonato (EMS), respectivamente. El material vegetal

mutagenizado se somete posteriormente a una presión de selección ambiental (por ejemplo, estrés abiótico: alta salinidad, presión osmótica, etc.) el material vegetal que sobrevive, se lleva hasta la fase de crecimiento reproductivo y se propaga (Ben-Hayyim y Moore, 2007; Mba et al., 2007). Este procedimiento puede llevarse a cabo en tejidos vegetativos, cultivos celulares, callos, etc. y el resultado es totalmente aleatorio. Explantes de tejido vegetativo de *Chrysanthemum morifolium* establecidos *in vitro* se trataron con EMS y posteriormente se regeneraron brotes que se sometieron a estrés salino, seleccionando aquellos que presentaron mejor rendimiento. Por otro lado, explantes de tubérculos de patata cultivados *in vitro* se sometieron a radiación gamma, las plantas regeneradas fueron expuestas a la salinidad y se recuperaron las más tolerantes (Yaycili y Alíkamanoğlu, 2012). Una estrategia similar se siguió con remolacha azucarera para obtener variantes más tolerantes a la sequía (Sen y Alikamanoglu, 2014) o en colza tratando microsporas con radiación UV e induciendo mutaciones puntuales (McClinchey y Kott, 2007). Para inducir cambios genéticos específicos se emplea la transformación genética.

3.2. TRANSFORMACIÓN GENÉTICA MEDIADA POR AGROBACTERIUM TUMEFACIENS

La ingeniería de plantas para mejorar la respuesta al estrés abiótico ha consistido clásicamente en el fortalecimiento de los sistemas de respuesta de la planta mediante la intervención en diferentes etapas de la respuesta: desde sensores, componentes de señalización / reguladores (por ejemplo, receptores, quinasas, etc.), o efectores (por ejemplo, genes biosintéticos, enzimas antioxidantes, proteínas de choque térmico, etc.) (Cabello et al., 2014). A este respecto, la búsqueda de genes diana que pueden conferir a los cultivos tolerancia al estrés surge de la caracterización fisiológica y molecular de parientes silvestres de genotipos de plantas de interés tolerante al estrés abiótico: genes implicados en la biosíntesis de osmolitos, regulación del estrés oxidativo (Balestrazzi et al., 2009; Jin y Daniell, 2014), la biosíntesis de fitoquelatinas (Liu et al., 2011) o el transporte de solutos de raíz a parte aérea (Barabasz et al., 2013). Algunos genes del extremófilo *Thellungiella salsuginea* se han transferido a *Arabidopsis thaliana* o a otros sistemas vegetales resultando en una mejor tolerancia al estrés abiótico. La sobreexpresión de ThCBL9, que codifica para una proteína del sensor de calcio de tipo calcineurina B9, dio como resultado una mejor absorción de K⁺ en condiciones salinas (Alemán et al., 2009; Ren et al., 2013). En cítricos, la sobreexpresión de la 1-pirrolina-5-carboxilato sintasa (P5CS) aumentó la producción de

prolina y la tolerancia a la sequía (Molinari et al., 2004). En *Populus alba* la sobreexpresión del gen mtID, que codifica una manitol-1-fosfato deshidrogenasa, mejoró la tolerancia a la salinidad mediante la acumulación de manitol y un mejor ajuste osmótico (Hu et al., 2005). A pesar de las evidencias que apoyan la eficiencia de varios genes efectores como inductores de la tolerancia al estrés, su aplicabilidad a las condiciones reales de campo parece bastante restringida. En condiciones reales, varios factores de estrés coinciden al mismo tiempo induciendo respuestas fisiológicas y moleculares diferentes de las tensiones individuales (Suzuki et al., 2014).

3.3. TÉCNICAS DE EDICIÓN GENÉTICA

En los últimos años, la edición dirigida de genomas utilizando nucleasas artificiales se ha convertido en una realidad que proporciona una herramienta para modificar los genomas de forma rápida, precisa y predecible (Bortesi y Fischer, 2014). Antes de 2013, las únicas herramientas de edición del genoma disponibles eran ZFN (Zinc Finger Nucleases) y TALENs (Transcription Activator-like Effector Nuclease). Ambos sistemas se basan en proteínas de fusión artificiales que comprenden un dominio de unión a ADN manipulado fusionado con el dominio de una nucleasa no específico de la enzima de restricción FokI. Por el contrario, CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat/CRISPR-associated endonuclease 9) de *Streptococcus pyogenes* se basa en el uso de un RNA que guía la acción de endonucleasas modificadas. El sistema es una parte del sistema inmune de *S. pyogenes* que integra fragmentos de DNA invasor (espaciadores) entre dos repeticiones adyacentes en el extremo proximal del locus CRISPR (Mojica et al., 2009, 2005). El RNA guía está constituido por una secuencia de 20 nucleótidos que puede ser modificada para tener homología con cualquier parte del genoma. Esta secuencia guía a la endonucleasa Cas9 al sitio de acción y corta el DNA homólogo de doble cadena en el sitio diana (Figura 2a). De igual manera, pero incluyendo la secuencia codificante de un gen en el plásmido CRISPR, sería posible introducir genes en regiones específicas del genoma (Figura 2b). A fecha de hoy, esta técnica se ha aplicado con éxito en plantas modelo y también a cultivos como el arroz (Shan et al., 2014) o los cítricos (Jia y Wang, 2014). Así, empleando esta tecnología se han generado líneas de cítricos silenciadas para el gen CsPDS que codifica una desaturasa de fitoeno (Jia y Wang, 2014), o con RNA guías dirigidos a genes codificantes de MAP quinasas o factores de transcripción tales como MYB1 (Bortesi y Fischer, 2014).

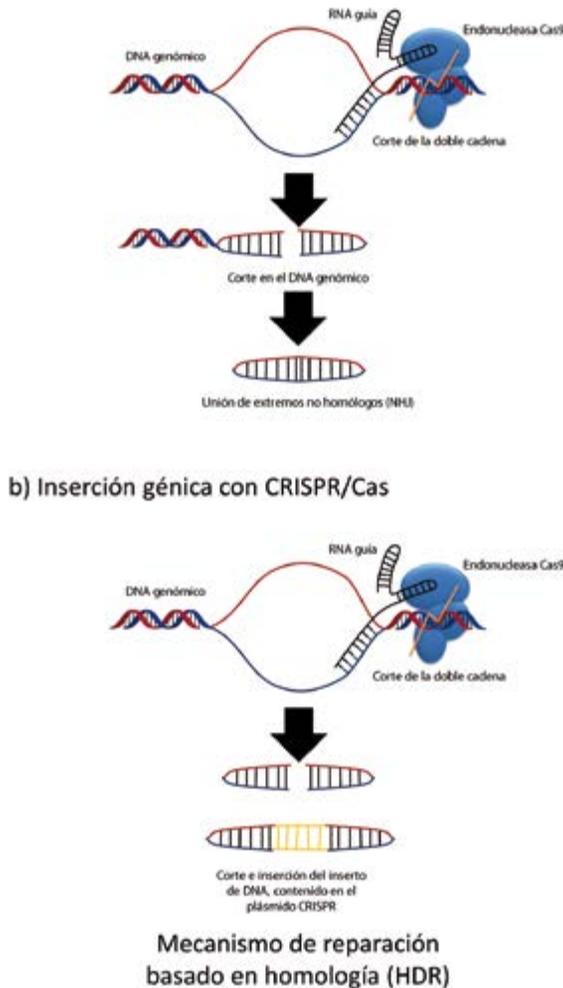


Figura 2. Usos de la técnica de edición genética CRISPR/Cas. Aplicación para el silenciamiento génico (a) y para la inserción de secuencias de interés (b).

4. Conclusiones

La aplicación e integración de técnicas -ómicas permite en la actualidad establecer un mapa de interacciones entre distintos factores reguladores y su(s) dianas efectoras: desde factores de transcripción, pasando por proteínas enzimáticas o transportadores de solutos, de tal forma que es posible re-evaluar completamente la respuesta fisiológica, bioquímica y molecular desde un prisma integrativo. Como resultado, es

más que probable que se identifiquen nuevos componentes reguladores cuya modificación permita la obtención de cultivos más tolerantes a las condiciones adversas consecuencia del cambio climático.

A todo esto hay que sumar los avances en las técnicas de edición genética que, con la técnica CRISPR/Cas permitirá modificar genomas de forma rápida, dirigida y sin las limitaciones de la transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* tanto a nivel técnico, como legal.

5. Agradecimientos

Los trabajos realizados en nuestro grupo de investigación y descritos en esta publicación fueron financiados a través de proyectos del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y la Universitat Jaume I (referencias AGL2016-76574-R y UJI-B2016-24, respectivamente).

6. Bibliografía

- Alemán, F., Nieves-Cordones, M., Martínez, V., Rubio, F., 2009. Differential regulation of the HAK5 genes encoding the high-affinity K⁺ transporters of *Thellungiella halophila* and *Arabidopsis thaliana*. *Environ. Exp. Bot.* 65: 263–269.
- Allario, T., Brumos, J., Colmenero-Flores, J.M., Iglesias, D.J., Pina, J. a, Navarro, L., Talon, M., Ollitrault, P., Morillon, R., 2012. Tetraploid Rangpur lime rootstock increases drought tolerance via enhanced constitutive root abscisic acid production. *Plant. Cell Environ.* 36: 856–868.
- Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., 2008. Hormonal modulation of citrus responses to flooding. *J. Plant Growth Regul.* 27: 241–250.
- Arbona, V., Hossain, Z., López-Climent, M.F., Pérez-Clemente, R.M., Gómez-Cadenas, A., 2008. Antioxidant enzymatic activity is linked to waterlogging stress tolerance in citrus. *Physiol. Plant.* 132: 452–66.
- Arbona, V., López-climent, M.F., Pérez-Clemente, R.M., Gómez-cadenas, A., 2009. Maintenance of a high photosynthetic performance is linked to flooding tolerance in citrus. *Environ. Exp. Bot.* 66: 135–142.
- Arbona, V., De Ollas, C., Argamasilla, R., López-Climent, M.F., Gómez-Cadenas, A., 2015. Hormone and metabolite traits related to abiotic stress tolerance in citrus. *Acta Hort.* 1065: 1275–1282.

- Arbona, V., Zandalinas, S.I., Manzi, M., González-Guzmán, M., Rodríguez, P.L., Gómez-Cadenas, A., 2017. Depletion of abscisic acid levels in roots of flooded Carrizo citrange (*Poncirus trifoliata* L. Raf. × *Citrus sinensis* L. Osb.) plants is a stress-specific response associated to the differential expression of PYR/PYL/RCAR receptors. *Plant Mol. Biol.* 93: 623-640.
- Argamasilla, R., Gómez-Cadenas, A., Arbona, V., 2013. Metabolic and regulatory responses in citrus rootstocks in response to adverse environmental conditions. *J. Plant Growth Regul.* 33: 169-180.
- Balestrazzi, A., Botti, S., Zelasco, S., Biondi, S., Franchin, C., Calligari, P., Racchi, M., Turchi, A., Lingua, G., Berta, G., Carbonera, D., 2009. Expression of the PsMTA1 gene in white poplar engineered with the MAT system is associated with heavy metal tolerance and protection against 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated-DNA damage. *Plant Cell Rep.* 28: 1179-92.
- Barabasz, A., Wilkowska, A., Tracz, K., Ruszczczyńska, A., Bulska, E., Mills, R.F., Williams, L.E., Antosiewicz, D.M., 2013. Expression of HvHMA2 in tobacco modifies Zn-Fe-Cd homeostasis. *J. Plant Physiol.* 170: 1176-86.
- Ben-Hayyim, G., Moore, G.A., 2007. Recent advances in breeding citrus for drought and saline stress tolerance, En: Jenks, M.A., Hasegawa, P.M. y Jain, S.M. (eds.), Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Bortesi, L., Fischer, R., 2014. The CRISPR/Cas9 system for plant genome editing and beyond. *Biotechnol. Adv.* 33: 41-52.
- Cabello, J. V, Lodeyro, A.F., Zurbriggen, M.D., 2014. Novel perspectives for the engineering of abiotic stress tolerance in plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 26: 62-70.
- Chen, L., Song, Y., Li, S., Zhang, L., Zou, C., Yu, D., 2012. The role of WRKY transcription factors in plant abiotic stresses. *Biochim. Biophys. Acta* 1819: 120-8.
- de Ollas, C., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., 2015a. Jasmonoyl isoleucine accumulation is needed for abscisic acid build-up in roots of *Arabidopsis* under water stress conditions. *Plant, Cell Environ.* 38: 2157-2170.
- De Ollas, C., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., 2015b. Jasmonic acid interacts with abscisic acid to regulate plant responses to water stress conditions. *Plant Signal. Behav.* 2324: 00-00.
- De Ollas, C., Hernando, B., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., 2013. Jasmonic acid transient accumulation is needed for abscisic acid increase in citrus roots under drought stress conditions. *Physiol. Plant.* 147: 296-306.

- Denekamp, M., Smeekens, S.C., 2003. Integration of wounding and osmotic stress signals determines the expression of the AtMYB102 Transcription Factor Gene 1. *Plant Physiol.* 132: 1415–1423.
- Diévert, A., Clark, S.E., 2004. LRR-containing receptors regulating plant development and defense. *Development* 131: 251–61.
- Estornell, L.H., Agustí, J., Merelo, P., Talón, M., Tadeo, F.R., 2013. Elucidating mechanisms underlying organ abscission. *Plant Sci.* 199–200: 48–60.
- Fujita, Y., Fujita, M., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., 2011. ABA-mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants. *J. Plant Res.* 124: 509–25.
- Furihata, T., Maruyama, K., Fujita, Y., Umezawa, T., Yoshida, R., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., 2006. Abscisic acid-dependent multisite phosphorylation regulates the activity of a transcription activator AREB1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103: 1988–93.
- García-Sánchez, F., Syvertsen, J.P., Gimeno, V., Botía, P., Perez-Perez, J.G., 2007. Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiol. Plant.* 130: 532–542.
- Geiger, D., Maierhofer, T., Al-Rasheid, K.A.S., Scherzer, S., Mumm, P., Liese, A., Ache, P., Wellmann, C., Marten, I., Grill, E., Romeis, T., Hedrich, R., 2011. Stomatal closure by fast abscisic acid signaling is mediated by the guard cell anion channel SLAH3 and the receptor RCAR1. *Sci. Signal.* 4: ra32.
- Gimeno, J., Gadea, J., Forment, J., Pérez-Valle, J., Santiago, J., Martínez-Godoy, M. a, Yenush, L., Bellés, J.M., Brumós, J., Colmenero-Flores, J.M., Talón, M., Serrano, R., 2009. Shared and novel molecular responses of mandarin to drought. *Plant Mol. Biol.* 70: 403–20.
- Gómez-Cadenas, A., Tadeo, F.R., Talon, M., Primo-Millo, E., 1996. Leaf abscission Induced by ethylene in water-stressed Intact seedlings of Cleopatra mandarin requires previous abscisic acid accumulation in roots. *Plant Physiol.* 112: 401–408.
- Gonçalves, L.P., Alves, T., Martins, C. de P.S., de Sousa, A.O., dos Santos, I.C., Pirovani, C.P., Almeida, A.F., Coelho Filho, M.A., Gesteira, A.S., Soares Filho, W. dos S., Girardi, E.A., Costa, M.G.C., 2016. Rootstock-induced physiological and biochemical mechanisms of drought tolerance in sweet orange. *Physiol. Plant.* 38: 174.
- Gonzalez-Guzman, M., Pizzio, G. a, Antoni, R., Vera-Sirera, F., Merilo, E., Bassel, G.W., Fernández, M. a, Holdsworth, M.J., Perez-Amador, M.A., Kollist, H., Rodriguez, P.L., 2012. Arabidopsis PYR/PYL/RCAR receptors play a major role in quantitative re-

- gulation of stomatal aperture and transcriptional response to abscisic acid. *Plant Cell* 24: 2483–2496.
- Hattori, Y., Nagai, K., Ashikari, M., 2011. Rice growth adapting to deepwater. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14: 100–5.
- Hossain, Z., López-Climent, M.F., Arbona, V., Pérez-Clemente, R.M., Gómez-Cadenas, A., 2009. Modulation of the antioxidant system in Citrus under waterlogging and subsequent drainage. *J. Plant Physiol.* 166: 1391–404.
- Hu, L., Lu, H., Liu, Q., Chen, X., Jiang, X., 2005. Overexpression of mtID gene in transgenic *Populus tomentosa* improves salt tolerance through accumulation of mannitol. *Tree Physiol.* 25: 1273–81.
- Jeon, J., Kim, N.Y., Kim, S., Kang, N.Y., Novák, O., Ku, S.-J., Cho, C., Lee, D.J., Lee, E.-J., Strnad, M., Kim, J., 2010. A subset of cytokinin two-component signaling system plays a role in cold temperature stress response in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 285: 23371–86.
- Jia, H., Wang, N., 2014. Targeted genome editing of sweet orange using Cas9/sgRNA. *PLoS One* 9: e93806.
- Jin, S., Daniell, H., 2014. Expression of γ -tocopherol methyltransferase in chloroplasts results in massive proliferation of the inner envelope membrane and decreases susceptibility to salt and metal-induced oxidative stresses by reducing reactive oxygen species. *Plant Biotechnol. J.* 12: 1274–85
- Kleinow, T., Himbert, S., Krenz, B., Jeske, H., Koncz, C., 2009. NAC domain transcription factor ATAF1 interacts with SNF1-related kinases and silencing of its subfamily causes severe developmental defects in *Arabidopsis*. *Plant Sci.* 177: 360–370.
- Komatsu, S., Shirasaka, N., Sakata, K., 2013. “Omics” techniques for identifying flooding-response mechanisms in soybean. *J. Proteomics* 93: 169–178.
- Liu, G.-Y., Zhang, Y.-X., Chai, T.-Y., 2011. Phytochelatin synthase of *Thlaspi caerulescens* enhanced tolerance and accumulation of heavy metals when expressed in yeast and tobacco. *Plant Cell Rep.* 30: 1067–76.
- Lobell, D.B., Gourdji, S.M., 2012. The influence of climate change on global crop productivity. *Plant Physiol.* 160: 1686–97.
- Marshall, A., Aalen, R.B., Audenaert, D., Beeckman, T., Broadley, M.R., Butenko, M. a, Caño-Delgado, A.I., de Vries, S., Dresselhaus, T., Felix, G., Graham, N.S., Foulkes, J., Granier, C., Greb, T., Grossniklaus, U., Hammond, J.P., Heidstra, R., Hodgman, C., Hothorn, M., Inzé, D., Ostergaard, L., Russinova, E., Simon, R., Skirycz, A., Stahl, Y.,



- Zipfel, C., De Smet, I., 2012. Tackling drought stress: receptor-like kinases present new approaches. *Plant Cell* 24: 2262–78.
- Martínez-Alcántara, B., Jover, S., Quiñones, A., Forner-Giner, M. ángeles, Rodríguez-Gamir, J., Legaz, F., Primo-Millo, E., Iglesias, D.J., 2012. Flooding affects uptake and distribution of carbon and nitrogen in citrus seedlings. *J. Plant Physiol.* 169: 1150–1157.
- Martínez-Cuenca, M.R., Quiñones, A., Primo-Millo, E., Forner-Giner, M.Á., 2015. Flooding impairs Fe uptake and distribution in Citrus due to the strong down-regulation of genes involved in strategy I responses to Fe deficiency in roots. *PLoS One* 10: 1–17.
- Mba, C., Afza, R., Jain, S.M., Gregorio, G.B., Zapata-Arias, F.J., 2007. Induced Mutations For Enhancing Salinity Tolerance in Rice, En: Jenks, M.A., Hasegawa, P.M. y Jain, S.M. (eds.), *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops*. Springer Netherlands, Dordrecht.
- McClinchey, S.L., Kott, L.S., 2007. Production of mutants with high cold tolerance in spring canola (*Brassica napus*). *Euphytica* 162: 51–67.
- Mengiste, T., Chen, X., Salmeron, J., Dietrich, R., 2003. The BOTRYTIS SUSCEPTIBLE1 gene encodes an R2R3MYB transcription factor protein that is required for biotic and abiotic stress responses in Arabidopsis. *Plant Cell* 15: 2551–65.
- Merelo, P., Agustí, J., Arbona, V., Costa, M.L., Estornell, L.H., Gómez-Cadenas, A., Coimbra, S., Gómez, M.D., Pérez-Amador, M.A., Domingo, C., Talón, M., Tadeo, F.R., 2017. Cell wall remodeling in abscission zone cells during ethylene-promoted fruit abscission in citrus. *Front. Plant Sci.* 8: 7–8.
- Mojica, F.J.M., Díez-Villaseñor, C., García-Martínez, J., Almendros, C., 2009. Short motif sequences determine the targets of the prokaryotic CRISPR defence system. *Microbiology* 155: 733–740.
- Mojica, F.J.M., Díez-Villaseñor, C., García-Martínez, J., Soria, E., 2005. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *J. Mol. Evol.* 60: 174–182.
- Molinari, H.B.C., Marur, C.J., Filho, J.C.B., Kobayashi, A.K., Pileggi, M., Júnior, R.P.L., Pereira, L.F.P., Vieira, L.G.E., 2004. Osmotic adjustment in transgenic citrus rootstock Carrizo citrange (*Citrus sinensis* Osb. ´ *Poncirus trifoliata* L. Raf.) overproducing proline. *Plant Sci.* 167: 1375–1381.
- Moura, J.C.M.S., Bonine, C.A.V., de Oliveira Fernandes Viana, J., Dornelas, M.C., Mazzafera, P., 2010. Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants. *J. Integr. Plant Biol.* 52: 360–76.

- Nakamura, T., Yamamoto, R., Hiraga, S., Nakayama, N., Okazaki, K., Takahashi, H., Uchi-miya, H., Komatsu, S., 2012. Evaluation of metabolite alteration under flooding stress in soybeans. *Japan Agric. Res. Q.* 46: 237–248.
- Nakashima, K., Takasaki, H., Mizoi, J., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., 2012. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim. Biophys. Acta* 1819: 97–103.
- Osakabe, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Tran, L.-S.P., 2013. Sensing the environment: key roles of membrane-localized kinases in plant perception and response to abiotic stress. *J. Exp. Bot.* 64: 445–58.
- Otero, A., Goñi, C., Syvertsen, J.P., 2015. Flooding and soil temperature affect water relations and photosynthesis of citrus rootstock leaves. *Acta Hort.* 1065: 1399–1406.
- Peleg, Z., Blumwald, E., 2011. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14: 290–5.
- Persak, H., Pitzschke, A., 2014. Dominant repression by Arabidopsis transcription factor MYB44 causes oxidative damage and hypersensitivity to abiotic stress. *Int. J. Mol. Sci.* 15: 2517–37.
- Pham, J., Liu, J., Bennett, M.H., Mansfield, J.W., Desikan, R., 2012. Arabidopsis histidine kinase 5 regulates salt sensitivity and resistance against bacterial and fungal infection. *New Phytol.* 194: 168–80.
- Puranik, S., Sahu, P.P., Srivastava, P.S., Prasad, M., 2012. NAC proteins: regulation and role in stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 17: 369–81.
- Ren, X.-L., Qi, G.-N., Feng, H.-Q., Zhao, S., Zhao, S.-S., Wang, Y., Wu, W.-H., 2013. Calcineurin B-like protein CBL10 directly interacts with AKT1 and modulates K⁺ homeostasis in Arabidopsis. *Plant J.* 74: 258–66.
- Reynolds, M., Pask, A., Mullan, D. 2012. Physiological breeding I: Interdisciplinary approaches to improve crop adaptation. International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico, D.F.
- Rivero, R.M., Mestre, T.C., Mittler, R., Rubio, F., Garcia-Sanchez, F., Martinez, V., 2014. The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants. *Plant. Cell Environ.* 37: 1059–73.
- Rodríguez-Gamir, J., Ancillo, G., González-Mas, M.C., Primo-Millo, E., Iglesias, D.J., Forner-Giner, M.A., 2011. Root signalling and modulation of stomatal closure in flooded citrus seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 49: 636–45.

- Romero, P., Navarro, J.M., Pérez-Pérez, J., García-Sánchez, F., Gómez-Gómez, a, Porras, I., Martínez, V., Botía, P., 2006. Deficit irrigation and rootstock: their effects on water relations, vegetative development, yield, fruit quality and mineral nutrition of *Clemenules mandarin*. *Tree Physiol.* 26: 1537–48.
- Santana-Vieira, D.D.S., Freschi, L., Almeida, L.A. da H., Moraes, D.H.S. de, Neves, D.M., Santos, L.M. dos, Bertolde, F.Z., Soares Filho, W. dos S., Coelho Filho, M.A., da Silva Gesteira, A. 2016. Survival strategies of citrus rootstocks subjected to drought. *Sci. Rep.* 6: 38775.
- Schreiber, C.M., Zeng, B., Temperton, V.M., Rascher, U., Kazda, M., Schurr, U., Höltke-meier, A., Kuhn, A.J., 2011. Dynamics of organic acid occurrence under flooding stress in the rhizosphere of three plant species from the water fluctuation zone of the Three Gorges Reservoir, P.R. China. *Plant Soil* 344: 111–129.
- Sen, A., Alikamanoglu, S., 2014. Characterization of drought-tolerant sugar beet mutants induced with gamma radiation using biochemical analysis and isozyme variations. *J. Sci. Food Agric.* 94: 367–72.
- Shan, Q., Wang, Y., Li, J., Gao, C., 2014. Genome editing in rice and wheat using the CRISPR/Cas system. *Nat. Protoc.* 9: 2395–410.
- Shimamura, S., Yoshioka, T., Yamamoto, R., Hiraga, S., Nakamura, T., Shimada, S., Komatsu, S., 2014. Role of abscisic acid in flood-induced secondary aerenchyma formation in soybean (*Glycine max*) hypocotyls. *Plant Prod. Sci.* 17: 131–137.
- Shiu, S.-H., Blecker, A.B., 2001. Plant Receptor-Like Kinase Gene Family: Diversity, Function, and Signaling. *Sci. Signal.* 2001: re22-re22.
- Souza, J.D. De, Mario, E., Silva, D.A., Anto, M., Bonatto, D., Micheli, F., Silva, A., 2017. Different adaptation strategies of two citrus scion/rootstock combinations in response to drought stress. *PLoS One* 1–23.
- Stracke, R., Werber, M., Weisshaar, B., 2001. The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 447–56.
- Suzuki, N., Mittler, R., 2006. Reactive oxygen species and temperature stresses : A delicate balance between signaling and destruction. *Physiol. Plant.* 126: 45–51.
- Suzuki, N., Rivero, R.M., Shulaev, V., Blumwald, E., Mittler, R., 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytol.* 203: 32–43.
- Teixeira, E.I., Fischer, G., van Velthuizen, H., Walter, C., Ewert, F., 2013. Global hotspots of heat stress on agricultural crops due to climate change. *Agric. For. Meteorol.* 170: 206–215.

- Tran, L.P., Shinozaki, K., Yamaguchi-shinozaki, K., 2010. Role of cytokinin responsive two-component system in ABA and osmotic stress signalings. *Plant Signal. Behav.* 5: 148–150.
- Tran, L.-S.P., Urao, T., Qin, F., Maruyama, K., Kakimoto, T., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., 2007. Functional analysis of AHK1/ATHK1 and cytokinin receptor histidine kinases in response to abscisic acid, drought, and salt stress in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104: 20623–8.
- Verslues, P.E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., Zhu, J.-K., 2006. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *Plant J.* 45: 523–39.
- Veste, M., Ben-Gal, A., Shani, U., 2000. Impact of thermal stress and high vpd on gas exchange and chlorophyll fluorescence of *Citrus grandis* under desert conditions. *Acta Hortic.* 531: 143–149.
- Vidoz, M.L., Mignolli, F., Aispuru, H.T., Mroginski, L.A., 2016. Rapid formation of adventitious roots and partial ethylene sensitivity result in faster adaptation to flooding in the *aerial roots (aer)* mutant of tomato. *Sci. Hortic.* 201: 130–139.
- Vives-Peris, V., Marmaneu, D., Gómez-Cadenas, A., Pérez-Clemente, R.M., 2017. Characterization of *Citrus* WRKY transcription factors and their responses to phytohormones and abiotic stresses. *Biol. Plant.* 1–12.
- Vu, J.C.V., Yelenosky, G., 1992. Photosynthetic responses of rough lemon and sour orange to soil flooding, chilling, and short-term temperature fluctuations during growth. *Environ. Exp. Bot.* 32: 471–477.
- Vu, J.C.V., Yelenosky, G., 1991. Photosynthetic responses of citrus trees to soil flooding. *Physiol. Plant.* 81: 7–14.
- Wohlbach, D.J., Quirino, B.F., Sussman, M.R., 2008. Analysis of the *Arabidopsis* histidine kinase ATHK1 reveals a connection between vegetative osmotic stress sensing and seed maturation. *Plant Cell* 20: 1101–17.
- Yaycili, O., Alkamanoglu, S., 2012. Induction of salt-tolerant potato (*Solanum tuberosum* L.) mutants with gamma irradiation and characterization of genetic variations via RAPD-PCR analysis. *Turkish J. Biol.* 36: 405–412.
- Zandalinas, S.I., Balfagón, D., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., 2017b. Modulation of antioxidant defense system is associated with combined drought and heat stress tolerance in citrus. *Front. Plant Sci.* 8: 953.



Zandalinas, S.I., Mittler, R., Balfagon, D., Arbona, V., Gomez-Cadenas, A., Balfagón, D., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., 2018. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiol. Plant.* 162: 2–12.

Zandalinas, S.I., Rivero, R.M., Martínez, V., Gómez-Cadenas, A., Arbona, V., 2016a. Tolerance of citrus plants to the combination of high temperatures and drought is associated to the increase in transpiration modulated by a reduction in abscisic acid levels. *BMC Plant Biol.* 16: 105.

Zandalinas, S.I., Sales, C., Beltran, J., Gómez-Cadenas, A., Arbona, V., 2016b. Activation of secondary metabolism in citrus plants is associated to sensitivity to combined drought and high temperatures. *Front. Plant Sci.* 7: 1954.



Capítulo VII.

LA MEJORA DE OLIVO PARA ADAPTACIÓN AL CAMBIO CLIMÁTICO

Raúl de la Rosa^{1*}, Angielina Belaj¹, José F. Navas¹, Cristina Santos¹, Clara Gabaldón-Leal¹, Domingo Rios², Guacimara Medina², Lorenzo León^{1*} e Ignacio J. Lorite¹

1 IFAPA (Centro Alameda del Obispo) Córdoba, España

2 Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural, Cabildo de Tenerife, Tenerife, Spain.

*Coordinadores: raul.rosa@juntadeandalucia.es
lorenzo.leon@juntadeandalucia.es

CONTENIDO:

1. Introducción
2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro
3. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética
4. Objetivos de mejora
5. Biotecnología aplicada a la mejora genética
6. Conclusiones
7. Bibliografía



Capítulo VII.

LA MEJORA DE OLIVO PARA ADAPTACIÓN AL CAMBIO CLIMÁTICO

1. Introducción

El olivo (*Olea europea* L.) ha sido cultivado en la Península Ibérica posiblemente desde principios del primer milenio a. C. y actualmente España es el líder mundial en producción de aceite de oliva, responsable del 40% de la producción mundial (FAOSTAT, 2016). Dentro de España, el olivo se cultiva principalmente en Andalucía, Extremadura, Castilla-La Mancha, Cataluña, Comunidad Valencia, Aragón y La Rioja (ESYRCE, 2017). En muchas de las áreas donde se cultiva el olivo, además de un componente económico, tiene un importante papel social ya que genera un gran número de empleos por unidad de superficie (CAPDR, 2008). Por este motivo, los efectos del cambio climático en el olivo pueden tener un impacto muy significativo tanto en la economía como en la sociedad española.

Hasta mediados del siglo XX, el cultivo del olivo ha tenido un carácter muy tradicional, restringido a zonas de sierra con suelos pobres, variedades locales, baja densidad de plantación y cultivo en secano (Rallo et al., 2005). Desde ese momento, y especialmente a partir de la década de los años 70, el olivar experimentó una lenta expansión, acompañada de una modernización de las técnicas de cultivo y extracción de aceite (Arcas et al., 2013). Esta modernización incluyó el aumento de densidades de plantación, introducción del riego, mecanización y desplazamiento del cultivo hacia zonas más productivas (Tabla 1) (Barranco et al., 2017). Las nuevas plantaciones o la reconversión de las antiguas se realizaron con un número muy limitado de variedades, muy productivas y de buen comportamiento agronómico, como 'Picual' y 'Arbequina'. Sin embargo, todos estos avances no vinieron acompañados con la aparición de nuevas variedades obtenidas por mejora genética.

Desde los años 90 del siglo pasado, la tendencia a la intensificación se aceleró con la aparición de las plantaciones en seto (Figura 1), un nuevo sistema de cultivo del olivo, caracterizado por una recolección totalmente mecanizada y unas densidades de

plantación muy altas (Tous et al., 2014). Sin embargo, dado que es necesario un vigor reducido y una alta flexibilidad de los ramos para permitir el paso de la cosechadora cabalgadora por encima del seto de olivos, son pocas las variedades de olivo que se adaptan a este tipo de plantaciones. En la actualidad el olivar en seto se cultiva en su mayoría en regadío, si bien actualmente se están desarrollando algunas experiencias de cultivo en secano a una menor densidad de plantación.

Tabla 1. Características de los distintos sistemas de cultivo en olivo (CAPDR, 2014).

Sistema de cultivo	Superficie (%)	Producción (%)	Densidad (árboles/ha)	Productividad (kg/ha)
Marginal	30,0	15	<80	≤ 1000
Tradicional	48,0	45	80-150	1500-3000
Intensivo	21,5	40	200-450	5000-7000 (riego 8000-12000)
Seto	1,5	10	1500-2500	8000-12000



Figura 1. Plantación de olivar en seto donde la aceituna es recogida por una máquina cabalgadora.

En términos generales se puede decir que la intensificación en el olivar en España ha venido acompañada de un aumento muy significativo de la proporción de olivar que se encuentra en riego (Figura 2).

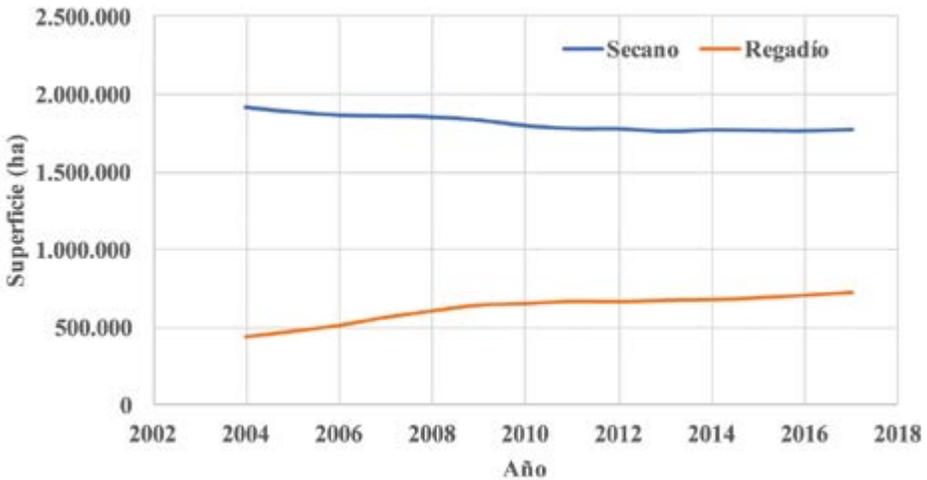


Figura 2. Evolución de la superficie de riego en España.

Otra característica de este proceso de intensificación del olivar, vivido especialmente desde los años 90, es su expansión a zonas donde el olivo no era un cultivo tradicional. En España, el cultivo se está expandiendo hacia zonas más cálidas, como Huelva, Cádiz y Almería, o hacia zonas más frías, como Valladolid (ESYRCE, 2017). Y lo mismo ocurre en otras zonas del mundo, como Australia o Argentina (Torres et al., 2017).

En resumen, los cambios sufridos en los sistemas olivareros en las últimas décadas asociados al aumento de la superficie en riego, los nuevos sistemas de plantación y la expansión del cultivo a nuevas zonas, hacen necesarios el estudio del comportamiento del cultivo del olivo ante diferentes escenarios de cambio climático. Igualmente, la erosión genética que se está evidenciando en las nuevas plantaciones de olivar hace este estudio aún más trascendente ante la necesidad de buscar medidas efectivas de adaptación que al menos reduzcan el impacto del cambio climático sobre el olivar mediterráneo.

2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro

Diferentes organismos de investigación internacionales prevén un incremento global en la temperatura media de al menos 2 °C para final de siglo (IPCC, 2014), llegando este incremento en las regiones mediterráneas, durante los meses cálidos, hasta a 4°C (Giannakopoulos et al., 2009), así como reducciones en la precipitación (CEDEX, 2011) e incrementos en la variabilidad interanual de ésta (Vicente-Serrano et al., 2011). Estos incrementos en las temperaturas medias y extremas, junto a una reducción en la precipitación podrían variar la fenología del cultivo del olivo (Gabaldón-Leal et al., 2017), incrementar el estrés hídrico y por temperatura y aumentar las necesidades hídricas (Rodríguez Díaz et al., 2007; Tanasijevic et al., 2014). Todo ello afectaría muy negativamente a la floración, el cuajado de fruto y el proceso de acumulación de aceite (lipogénesis) y, por tanto, se producirían reducciones en la producción de aceite de oliva en la región mediterránea (Baldi et al., 2013; Koubouris et al., 2009).

Para el olivo, como en otros cultivos, la floración es una fase fenológica clave debido a su sensibilidad a eventos extremos de calor y estrés hídrico, afectando significativamente a la producción final (Ayerza and Sibbett, 2001; Rapoport et al., 2012). Los escenarios climáticos que se manejan para las próximas décadas podrían tener un doble efecto sobre la floración del olivo: floración anormal por falta de frío y adelanto de la fenología de floración por aumento de la temperatura (Pérez-López et al., 2012).

Así, la reducción en la acumulación de frío invernal podría implicar que no se completen los requerimientos de frío y, por tanto, que no se produzca floración o que ésta sea anormal (Griggs et al., 1975). Floraciones anormales se han detectado en Argentina para algunas variedades como 'Frantoio' y 'Leccino' y, en menor medida 'Arbequina' (Aybar et al., 2015). En las Islas Canarias, donde los inviernos son muy templados (Medina-Alonso y Perdomo, 2015), se ha observado una falta de sincronización en la brotación de las yemas reproductivas (Figura 3), haciendo que la evolución de la fenología de floración a nivel de árbol sea errática (Figura 4). Esta falta de sincronía de la floración también se ha observado en algunas zonas de Perú, donde se ha propuesto la inducción de estrés hídrico para compensar la falta de frío invernal (Castillo-Llanque et al., 2014). Sin embargo, este fenómeno está poco estudiado de una manera sistemática y tampoco se conoce si hay diferencias entre variedades en cuanto a las necesidades de frío invernal (De Melo-Abreu et al., 2004), aunque hay algunos estudios en marcha para determinarlo.



Figura 3. Desincronización de la floración en un ramo de olivo cultivado en la isla de Tenerife causada por la falta de frío invernal.

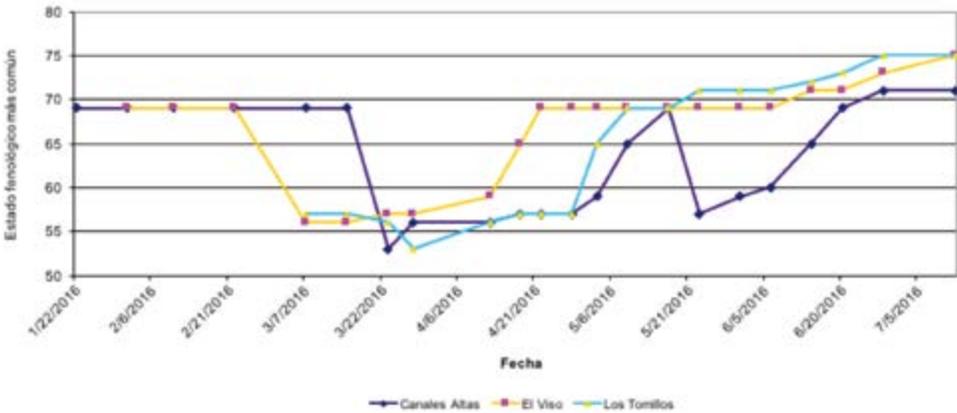


Figura 4. Comparativa de la evolución de la fenología de floración (estadio más común) de la variedad 'Arbequina' en tres localidades de Tenerife.

Por el contrario, los factores que afectan a la fenología de la floración sí que han sido ampliamente estudiados en olivo. Tradicionalmente, la fecha de floración se estimaba mediante la captura de polen (Galán et al., 2005) o mediante modelos de simulación basados en observación (Orlandi et al., 2005). Para determinar la fecha de floración del olivo con el empleo de modelos de simulación, se consideran dos fases claramente diferenciadas; la endodormancia y la ecodormancia (Chuine et al., 2013), considerando las necesidades de frío y calor, respectivamente (Aguilera et al., 2014; De Melo-Abreu et al., 2004; Gabaldón-Leal et al., 2017; Galán et al., 2005). Existen varios procedimientos para estimar las necesidades de horas frío en la fase de endodormancia como el que considera una temperatura óptima y una temperatura superior umbral desde la que se reduce la acumulación de horas frío cuando ésta es superada. Igualmente, el método más común para la acumulación de calor (fase de ecodormancia) considera el tiempo térmico hasta floración, o los grados-día acumulados, donde las unidades son acumuladas cuando la temperatura media diaria excede un umbral (De Melo-Abreu et al., 2004). Algunos de estos modelos (Gabaldón-Leal et al., 2017) se han usado para predecir si el cambio climático va a evitar que el olivo acumule suficiente frío en algunas zonas del Mediterráneo y, por tanto, no florezca (Figura 5). Sin embargo, en estos modelos de simulación habría que incluir, como posible efecto del cambio climático, la posibilidad de que la floración deje de ser sincrónica.

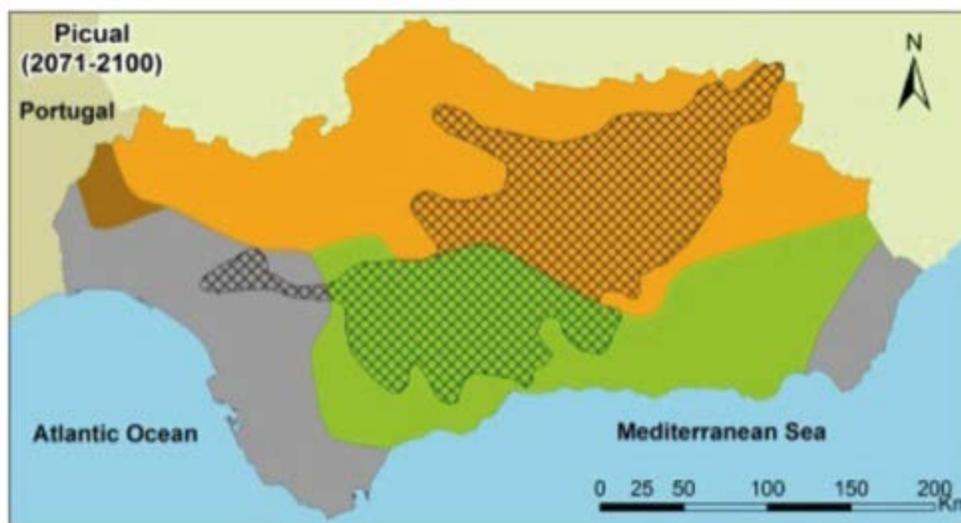


Figura 5. Mapa de Andalucía indicando las zonas con previsible falta de horas-frío (en gris) para la variedad Picual en el periodo 2071-2100.



Otras aproximaciones más simples de la estimación de la fenología de floración se centran exclusivamente en las necesidades de calor durante la ecodormancia exclusivamente (Orlandi et al., 2010a, 2010b). De hecho, algunos autores (El Yaacoubi et al., 2014; Fornaciari et al., 1998) sugieren que el olivo no tiene necesidades de frío y que la fenología de floración depende únicamente de la acumulación de calor. Sin embargo, los efectos de falta de sincronía de floración observados en la Islas Canarias y Perú contradicen esta hipótesis (Castillo-Llanque et al., 2014; Medina-Alonso y Perdomo 2015).

Hay otros aspectos de la biología floral del olivo, relacionados con la calidad de flor, la viabilidad del polen y el cuajado, que pueden verse afectados de manera muy significativa por el cambio climático. A pesar de la importancia de los mismos en la producción final, no existe ningún estudio sobre cómo las condiciones climáticas futuras pueden afectarlos. Sí que es conocido que las altas temperaturas reducen la viabilidad del estigma (Vuletin Selak et al., 2014) y la germinación del polen (Fernandez-Escobar et al., 1983; Koubouris et al., 2009) afectando por tanto al periodo efectivo de polinización y el cuajado (Cuevas et al., 1994). También se ha descrito un efecto negativo del estrés hídrico en diversos parámetros de la biología floral del olivo, afectando al cuajado final (Rapoport et al., 2012).

Ante el gran número de factores que intervienen en la producción de aceite, en la actualidad se está desarrollando un modelo dinámico para entender la fisiología del olivo y su interacción con diferentes factores ambientales (Morales et al., 2016). El uso de esta metodología puede ser de gran utilidad, entre otras cosas, para determinar la influencia del cambio climático en olivo.

Dada la importancia de la floración en la cosecha final, este es, con diferencia, el aspecto más estudiado del olivo en relación con el cambio climático. Sin embargo, otros componentes como el desarrollo del fruto, la acumulación de aceite, e incluso el proceso industrial de producción pueden verse afectados por modificaciones del clima (García-Inza et al., 2018; Torres et al., 2017), y son aspectos que es necesario estudiar en el futuro. Así se sabe que el estrés hídrico puede influir en el desarrollo inicial del fruto (Gucci et al., 2007; Perez-Lopez et al., 2008; Rapoport et al., 2004) y en la producción final (Cuevas et al., 1994). Por otro lado, un aumento de las temperaturas durante la lipogénesis, podría afectar a la acumulación de aceite y a la calidad del mismo (Dag et al., 2014). De hecho, en Argentina, se han elaborado modelos del patrón de acumulación de aceite en base a los grados-día acumulados, evidenciando un efecto negativo del incremento de temperatura tanto sobre el patrón de acumulación

de aceite como sobre la cantidad final del mismo (García-Inza et al., 2016; Rondanini et al., 2014; Trentacoste et al., 2012). De manera similar, en Andalucía, se ha visto que las condiciones ambientales del cultivo del olivo pueden influir tanto en el inicio y la tasa de acumulación de aceite como en la cantidad final acumulada (Figura 6). También parece necesario no solo analizar la temperatura media, sino el efecto de la amplitud térmica y de las temperaturas máximas y mínimas sobre la acumulación y calidad del aceite (García-Inza et al., 2018).

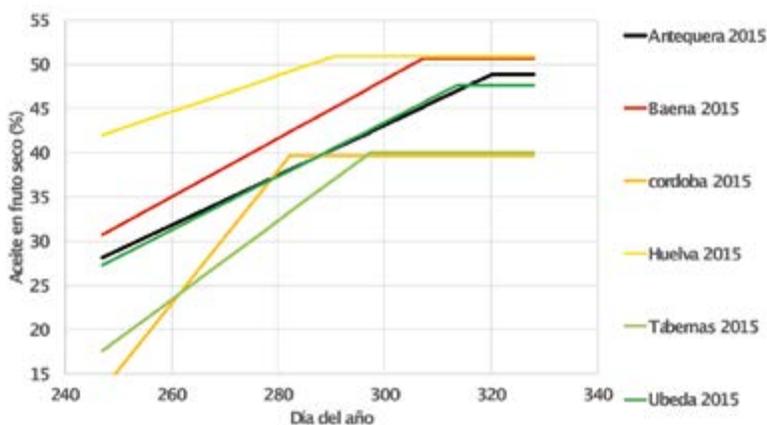


Figura 6. Patrón de acumulación de aceite en la variedad 'Arbequina' en áreas de cultivo con distintas condiciones ambientales de Andalucía.

El efecto de variaciones climáticas sobre la calidad del aceite ha sido especialmente estudiado en el caso de la variedad 'Arbequina', que es la que actualmente tiene más difusión a nivel internacional. Así, un aumento de la temperatura produce una disminución del contenido en ácido oleico, que en esta variedad es ya bajo de por sí (Allalout et al., 2009; Tous et al., 1997). De hecho, en determinadas zonas cálidas de países de Argentina, el contenido en ácido oleico de esta variedad es tan bajo que no cumple el mínimo para ser considerado aceite de oliva según la normativa comercial del Consejo Oleícola Internacional (Torres et al., 2017). Por el contrario, la disminución de agua disponible para el olivo puede tener un efecto beneficioso en la calidad del aceite aumentando el nivel de fenoles, e incluso de ácido oleico del aceite (García et al., 2017).

Más impredecible es el efecto del cambio climático sobre las enfermedades y plagas, aunque parece ser que un aumento significativo de la temperatura de suelo podría reducir la incidencia de *Verticillium dahliae* en olivo (Calderón et al., 2014).



Por último, todos los estudios sobre la influencia de las condiciones ambientales en aspectos reproductivos y de calidad de aceite en olivo, no solo son importantes de cara al estudio del comportamiento del cultivo del olivo ante el cambio climático, sino también por la expansión del cultivo del olivo fuera de sus áreas tradicionales y por la fragilidad inherente del clima Mediterráneo.

3. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética

A pesar del gran número de innovaciones introducidas en las últimas décadas, el cultivo del olivo sigue teniendo una gran componente de tradición. Esto es especialmente relevante en el caso del patrimonio varietal, que ha permanecido prácticamente intacto durante siglos, ayudado por la longevidad de la especie y su gran capacidad de supervivencia. Se dice que en el mundo puede haber más de 1200 variedades, aunque no existe una estimación precisa debido a la ausencia de trabajos sistemáticos de prospección, catalogación e identificación en muchos países olivareros (Beghe et al., 2011). Lo que sí está claro es que la gran mayoría de estas variedades son muy antiguas y que están confinadas alrededor de su zona de origen. En España, trabajos de prospección, recogida e identificación de variedades de olivo han puesto en evidencia la gran riqueza varietal nacional que consta de, al menos, 275 variedades de olivo (Barranco and Rallo, 2000).

A pesar de la riqueza de este patrimonio varietal, las nuevas plantaciones de olivo realizadas en las últimas décadas se han basado en muy pocas variedades, como se ha mencionado en la introducción. Es el caso de 'Frantoio' y 'Leccino' en Italia o 'Koroneiki' en Grecia. En España, las variedades que dominan las nuevas plantaciones de olivar son 'Picual', 'Hojiblanca' y 'Arbequina', sobre todo en Andalucía, pero también cada vez más en el resto de España. La creciente demanda de variedades adaptadas a una olivicultura moderna y competitiva, y la globalización de los mercados de aceite, aceituna de mesa y del sector viverístico, son algunas de las causas de la escasa diversificación varietal en las nuevas plantaciones de olivo (Arcas et al., 2013). Es especialmente llamativo el caso de la variedad 'Arbequina', cultivada tradicionalmente en Cataluña pero que se ha difundido en todo el mundo por su buena adaptación a condiciones ambientales muy diversas y, especialmente a su cultivo en plantaciones en seto (Figura 7). Todo ello conlleva un grave riesgo de erosión genética, es decir, la posible pérdida irreversible de variedades tradicionales. Sin embargo, estas variedades tra-

dicionales podrían ser una fuente de diversidad muy útil ante nuevas enfermedades o plagas (como la *Xylella fastidiosa*) y como punto de partida para la obtención de nuevas variedades por mejora genética. Este acervo genético podría ser en el futuro de gran utilidad también para la identificación de material vegetal de interés para el desarrollo de medidas de adaptación contra el cambio climático.



Figura 7. Plantación en seto de 'Arbequina' en Argentina.

Para evitar esta pérdida de biodiversidad, el patrimonio varietal del olivo se conserva en colecciones vivas de campo, al ser una especie de propagación vegetativa. Estas colecciones, también llamadas Bancos de Germoplasma, se reparten por todos los países olivareros, teniendo por objetivo fundamental la ya mencionada conservación del rico patrimonio varietal del olivo (Bartolini 2008). A pesar de la gran importancia de dichas colecciones, su manejo es una tarea continua y compleja (Baldoni and Belaj, 2009; Belaj et al., 2016), y muchas de estas colecciones tienen poca representatividad del material autóctono debido a escasos trabajos de prospección y catalogación varietal.

En España, la principal colección de variedades de olivo es La Colección Mundial de Variedades de Olivo del IFAPA Centro "Alameda del Obispo" de Córdoba (Figura 8). Esta colección, forma parte del Banco Mundial de Germoplasma del Olivo, un proyecto conjunto de IFAPA con la Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural y la Universidad de Córdoba en estrecha colaboración con el Consejo Oleícola Internacional (Belaj et al., 2012). Dicha colección cuenta con alrededor de 900 accesiones provenientes de 26 países de la Cuenca Mediterránea y de otras zonas con una larga (Irán) o más reciente (Sur y Centro América) tradición olivarera (Belaj et al. 2016).



Figura 8. Vista de las últimas ampliaciones de la Colección Mundial de Variedades de Olivo del IFAPA

La tarea más inmediata que demanda toda colección de germoplasma es la realización de un sistemático trabajo de identificación, dados los numerosos casos de confusión en las denominaciones varietales (Atienza et al., 2013; Trujillo et al., 2014). Históricamente se han utilizado diversos marcadores morfológicos, isoenzimáticos y moleculares para aclarar esta confusión varietal. En los últimos años, los marcadores SNP están posibilitando una identificación objetiva y sistemática del gran número de variedades conservadas en los Bancos de Germoplasma (Biton et al., 2015; Kaya et al., 2013; Reale et al., 2006).

Por otro lado, desde los años 70 dicha Colección Mundial de Variedades de Olivo ha sido evaluada por numerosos grupos de investigación para el estudio de características muy diversas como porte del árbol, producción, características de fruto y del aceite y resistencia a enfermedades o a limitaciones de suelo como caliza o sequía (Caballero et al., 2005; 2006). Para casi todos los caracteres evaluados, se ha observado una gran variabilidad genética. Esta variabilidad podría utilizarse, en algunos casos, para mitigar los efectos del cambio climático. Por ejemplo, se han identificado una serie de variedades con alto nivel de ácido oleico y alta estabilidad en el aceite, que pueden ser interesantes ante un posible aumento de las temperaturas durante la maduración y molienda. Sin embargo, para otros caracteres, como la fenología de floración, la alta influencia ambiental en su expresión dificulta la caracterización de la componente genética en las mismas y, por tanto, su posible utilización para el desarrollo de medidas de adaptación contra el cambio climático.

En cualquier caso, la evaluación agronómica y elaiotécnica realizada en las colecciones debe ser considerada como preliminar dado el reducido número de repeticiones (árboles) por variedad en dichas colecciones, en particular para aquellos caracteres cuya expresión se ve muy influenciada por el ambiente. La evaluación definitiva se debe realizar en ensayos comparativos que, al incluir un mayor número de repeticiones y en diferentes ambientes, permiten determinar las variedades más adecuadas para cada zona (De La Rosa et al., 2008; Belaj et al. 2016).

Además de las variedades cultivadas, el patrimonio genético del olivo incluye las poblaciones silvestres (acebuches) y las subespecies afines. Por un lado, existen poblaciones de olivo auténticamente silvestres, que son formas silvestres espontáneas que se encuentran en zonas naturales donde ha habido escasa o ninguna influencia antrópica. Por otro lado, también se consideran acebuches, aquellos individuos que proceden de plantas de semilla de las variedades de olivo o que derivan de cruzamientos entre acebuches auténticos y material cultivado (Lumaret et al., 2004). Los acebuches están caracterizados por su gran capacidad de adaptación a diferentes condiciones medioambientales, su gran resistencia al viento y a la sequía, su capacidad de regeneración del fuego y su gran longevidad (Mulas, 2012). Además, presentan mayores niveles de diversidad genética que las variedades (Belaj et al., 2010; Breton et al., 2006; Lumaret et al., 2004). En este sentido, las poblaciones silvestres de olivo podrían representar una nueva fuente de variabilidad genética para los programas de mejora de la especie. De hecho, algunos caracteres agronómicos como la resistencia a enfermedades (*Verticilium dahliae*) y plagas (*Bactrocera oleae*) y el bajo vigor, difíciles de encontrar en las variedades cultivadas de olivo, podrían estar presentes en los acebuches (Arias-Calderon et al., 2015; Colella et al., 2008; Mkize et al., 2008).

Por otro lado, los modelos climáticos futuros prevén un incremento en la escasez de recursos hídricos y por lo tanto se plantea la necesidad de iniciar trabajos de selección y mejora en olivo para buscar variedades y/o patrones resistentes a la sequía y a otras condiciones ambientales adversas. En este sentido, las poblaciones silvestres de olivo podrían ofrecer nuevos materiales de interés como posibles genitores y/o patrones en futuros programas de mejora. A pesar de ello, el valor potencial de los olivos silvestres y subespecies afines, no ha sido aún evaluado (Baldoni and Belaj, 2009) y la mayoría de los estudios de recursos genéticos de olivo se han llevado a cabo en variedades de olivo. Asimismo, los programas de mejora genética de olivo se han basado hasta ahora en cruzamientos entre variedades cultivadas de mérito reconocido. En este aspecto Australia es un ejemplo singular del empleo del material silvestre para la mejora de la especie (Guerin et al., 2003). En España, en los últimos años, se han iniciado esfuerzos



para la conservación, evaluación y uso de germoplasma silvestre, estableciéndose en el Centro IFAPA de Córdoba una colección de acebuches de diversas zonas de España y de otros países, que está siendo evaluada en condiciones de cultivo, similares a las normales en el olivo cultivado (Klepo et al., 2013).

4. Objetivos de mejora

Como se ha dicho anteriormente, la práctica totalidad de las variedades de olivo que se cultivan hoy día, tanto en España como en el resto del mundo, son variedades tradicionales, obtenidas por la selección empírica del agricultor a través de los siglos (Rallo, 2014). Este hecho contrasta con lo que sucede en la mayoría de los frutales, donde la renovación varietal es constante y las nuevas variedades tratan de adaptarse lo más posible a las distintas condiciones climáticas y sistemas de producción (Badenes y Byrne 2012).

Sin embargo, dado que la mayoría de las variedades han estado siempre restringidas a su área de origen, un paso previo a la obtención de nuevas variedades por métodos sistemáticos de mejora debe de ser el ensayo de variedades locales poco difundidas o de otras originarias de otras áreas de cultivo. Estos ensayos, de variedades antiguas pero manejadas con técnicas modernas de cultivo, podrían dar resultados de interés tanto por la obtención de aceites con características peculiares como por la identificación de resistencias a enfermedades y plagas conocidas o emergentes. También, variedades en principio poco conocidas se pueden revelar como altamente productivas. Es el caso de la variedad 'Arbosana' que está dando resultados muy buenos en cultivo en seto (De la Rosa et al., 2007; Vivaldi et al., 2015).

En general, hay que decir que en olivo son tremendamente escasos los ensayos comparativos de variedades y, prácticamente ninguno se ha realizado en diversas localidades. Es por ello, que la estimación de la interacción entre genotipo y ambiente en olivo es casi totalmente desconocida para la mayoría de los caracteres de interés (Ben Sadok et al., 2015; León et al., 2016; Rondanini et al., 2014). Tampoco existen muchos trabajos sobre estimaciones de la heredabilidad de los mismos. Y los trabajos que existen o bien estiman el efecto ambiental solo en base solo a la variabilidad entre años (León et al., 2015; Zeinanloo et al., 2009) o en la correlación entre padres y su descendencia (Arias-Calderon et al., 2014; Talhaoui et al., 2016), pero siempre en una sola localidad. Esto es especialmente trascendente si se quiere seleccionar o generar material vegetal adaptado a un posible cambio climático.

Por ejemplo, uno de los caracteres arriba mencionados que está muy influido por el cambio climático es la fenología de floración. Los primeros datos sobre la interacción genotipo - ambiente para la fecha de plena floración en olivo indican que es un carácter con una gran influencia ambiental, y con una gran interacción genotipo-ambiente, siendo la varianza genética muy baja (Navas et al, 2017). Entre las variedades comerciales, algunos trabajos han encontrado un adelanto en la fecha de floración de la variedad 'Arbequina' con respecto a otras variedades como 'Picual' (Gabaldón-Leal et al., 2017). Este adelanto de la floración ante condiciones climáticas futuras, puede permitir que la polinización y cuajado en el olivo quede libre del impacto de eventos extremos de temperatura y estrés hídrico, y por lo tanto se incrementa de forma notable la resiliencia del cultivo del olivo al cambio climático. En cualquier caso, los adelantos en la fecha de floración son limitados y adicionales medidas de adaptación serán precisas. Por tanto, es posible que la mejora genética para este carácter sea muy difícil y que, en el futuro se tenga que recurrir a los genotipos silvestres, donde sí parece que haya diferencias muy considerables en fechas de floración, respecto al material cultivado (Gabaldón-Leal et al., 2017).

Por el contrario, parece que los caracteres del fruto y de la composición del aceite más importantes sí que tienen un efecto genético muy significativo (Leon et al., 2016; Ripa et al., 2008). También hay indicios de que puede haber una interacción genotipo ambiente para estos caracteres (Rondanini et al., 2014). En concreto, sería interesante identificar variedades que mantienen sus caracteres estables ante un aumento de la temperatura o un descenso del agua disponible. Por ejemplo, la variedad 'Picual' parece que mantiene estable su alto contenido en ácido oleico cuando se cultiva en algunas zonas de Argentina donde la temperatura ambiente en lipogénesis es más alta que en sur de España (Torres et al., 2017). Al contrario, como ya se ha comentado antes, 'Arbequina' parece experimentar un descenso muy significativo del contenido en oleico al ser cultivadas en dichas zonas (Torres et al., 2017). En cualquier caso, todos estos datos son meramente indicativos y hay una necesidad imperiosa en olivo de establecer ensayos comparativos sistemáticos en condiciones ambientales muy diversas, tanto para determinar posibles efectos adversos del cambio climático como para predecir el comportamiento de las distintas variedades en nuevas regiones de cultivo, distintas de las tradicionales del clima Mediterráneo.

Un incremento en el número de variedades cultivadas, hoy restringido a unas pocas, puede tener de por sí efectos positivos frente al impacto del cambio climático en las zonas olivareras. Por ejemplo, plantaciones multivarietales pueden facilitar la polinización cruzada, lo cual puede provocar efectos muy beneficiosos en la productividad si el periodo efectivo de polinización se reduce al aumentar las temperaturas durante

la primavera (Cuevas et al., 2009; Vuletin Selak et al., 2014). Las plantaciones multivarietales también pueden suponer una cierta barrera ante nuevas plagas o enfermedades que puedan aparecer en olivo, al aumentar la probabilidad de que en alguna de las variedades utilizadas se encuentren genes de resistencia. En cualquier caso, la existencia de plantaciones monovarietales de grandes dimensiones, como las que se realizan hoy día para 'Arbequina' en seto o 'Picual' en vaso, pueden implicar numerosos riesgos ante un clima cambiante.

Por otro lado, los esfuerzos sistemáticos para obtener nuevas variedades de olivo por mejora genética han sido escasos y en general poco sistemáticos hasta la fecha. A ello han contribuido tanto factores técnicos como culturales. Entre los factores técnicos más nombrados están el largo periodo juvenil de la especie y la dificultad de obtener datos productivos consistentes (Rallo et al., 2011). Además, la cultura del cultivo del olivo ha estado ligada siempre a variedades tradicionales conocidas desde hace siglos, que son difícilmente reemplazables por otras nuevas. Solo en el caso del cultivo en seto, más receptivo a todo tipo de innovaciones, ha sido más sencilla la incorporación de variedades obtenidas por programas de mejora. Como consecuencia de estos factores, se han registrado pocas nuevas variedades de olivo (Tabla 2), las cuales, en general, no tienen una gran difusión en ninguno de los países olivareros. En España, el primer programa de mejora genética es fruto de la colaboración entre la Universidad de Córdoba y el IFAPA para la producción de variedades de aceite. En este programa, se registró hace unos años la variedad 'Sikitita' (Chiquitita) especialmente adaptada para el cultivo en seto (Rallo et al., 2008). Posteriormente, ha surgido otro programa en la Universidad de Sevilla para la obtención de nuevas variedades para aceituna de mesa (Casanova et al., 2014; Medina et al., 2012). También han surgido dos programas de mejora de empresas privadas (www.olint.es, www.todolivo.es) específicamente orientados al cultivo en seto y que cuentan ya con selecciones avanzadas que estarán en el mercado en un futuro no muy lejano.

Tabla 2. Variedades de olivo originadas en programas de mejora

Nombre	Origen	País	Año
'Kadesh'	Desconocido	Israel	1978
'Barnea'	Desconocido	Israel	1984
'Maalot'	Desconocido	Israel	1995
'Fs-17'	'Frantoio' libre	Italia	1998
'Arno'	'Picholine' x 'Manzanilla'	Italia	2000
'Tevere'	'Picholine' x 'Manzanilla'	Italia	2000

Nombre	Origen	País	Año
'Basento'	'Picholine' x 'Manzanilla'	Italia	2000
'Askal'	'Barnea' x 'Manzanilla'	Israel	2003
'Kadeshon'	'Kadesh' autopolinización	Israel	2004
'Sepoka'	'Kadesh' autopolinización	Israel	2004
'Masepo'	'Manzanilla' autopolinización	Israel	2004
'Chiquitita'	'Picual' x 'Arbequina'	España	2007
'Tosca'	Desconocido	Italia	2007

En todos los programas de mejora españoles y en los de otros países, los objetivos de mejora han estado centrados en caracteres productivos (cosecha, tamaño de fruto, rendimiento graso), calidad (componentes del aceite) y resistencia a enfermedades (Lavee, 2013; Rallo, 2014). Sin embargo, en el futuro, otros caracteres relacionados con la adaptación al cambio climático deberían de ser incluidos entre los criterios de selección de nuevas variedades de olivo. El más inmediato y con mayor importancia actual en un clima como el Mediterráneo es la adaptación a condiciones de baja disponibilidad de agua (Fernández, 2014). Se han evidenciado una serie de diferencias fisiológicas entre variedades en respuesta al estrés hídrico, pero se necesitan ensayos sistemáticos que combinen distintos niveles de disponibilidad hídrica y variedades a nivel de campo.

También deberán incluirse los aspectos relacionados con la biología floral en los programas de mejora de olivo. Ya se ha comentado que, para algunos caracteres como fenología de floración, el limitado efecto genético respecto al ambiental dificulta obtener una cierta eficiencia en la selección para este carácter. Sin embargo, sí que se ha visto una importante componente genética para diversos parámetros de calidad de flor (Moreno-alías et al., 2013; Rallo and Fernandez-Escobar, 1985; Rosati et al., 2011) que pueden verse seriamente afectados por el clima.

Por otro lado, ya se están desarrollando nuevos materiales con altos niveles de ácido oleico y alta estabilidad en el aceite, como algunas selecciones ya obtenidas en diversos programas de mejora (De la Rosa et al., 2013; Serrilli et al., 2008), que pueden ayudar a mantener unos buenos niveles de calidad de aceite, ante una eventual subida de las temperaturas durante el periodo de recolección y molturación de la aceituna.

Finalmente es preciso resaltar la necesidad de evaluar en profundidad la estabilidad de los caracteres ante distintas condiciones climáticas (León et al., 2016; Sadok et al., 2015). En un escenario de cambio climático, la evaluación de las selecciones en diversos ambientes antes de su registro será, más que nunca, una obligación.



5. Biotecnología aplicada a la mejora genética

En olivo, se han desarrollado hasta la fecha pocas herramientas biotecnológicas que puedan ayudar a mejorar la eficiencia de los programas de mejora. Las primeras herramientas fueron diversos mapas de ligamiento basados en marcadores RAPD, AFLP, SSR (de la Rosa et al., 2003; Khadari et al., 2010) y últimamente con marcadores moleculares de alto rendimiento (Biton et al., 2015; Domínguez-García et al., 2012). Dado que todos los caracteres de interés agronómico en olivo parecen tener una herencia cuantitativa, algunos de estos mapas de ligamiento han permitido localizar QTLs asociados a caracteres que pueden ser de interés para la adaptación al cambio climático, como el hábito de fructificación y crecimiento (Ben Sadok et al., 2013), rendimiento graso (Atienza et al., 2014) y composición ácida (Hernandez et al., 2017).

Por otro lado, se ha identificado un gen (FT) que puede estar relacionado con la floración en olivo y cuya expresión aumenta significativamente con el frío invernal (Haberman et al., 2017). Este gen puede ayudar a entender mejor el proceso de inducción floral en olivo y el papel del frío en el mismo.

Por último, son numerosos los trabajos sobre análisis de secuencias expresadas de genes de distintos órganos como el fruto (Galla et al., 2009) y la flor (Alagna et al., 2016) que pueden ayudar en el futuro a seleccionar variedades más adaptadas al cambio climático según los objetivos presentados en el apartado anterior.

Como se ha comentado antes, en olivo existe un conocimiento muy reducido de la heredabilidad y de la interacción entre genotipo y ambiente para los principales caracteres agronómicos. Esto constituye un hándicap muy importante para el desarrollo de herramientas biotecnológicas que mejoren la eficiencia de los programas de mejora. Además, actualmente existen muy pocos programas de mejora genética de olivo activos en el mundo, por lo que es imprescindible una reactivación de la mejora clásica para llenar de contenido los esfuerzos relativos a la identificación de genes y marcadores responsables de la variabilidad genética de los caracteres agronómicos de mayor interés.

6. Conclusiones

Afortunadamente en olivo se conserva un patrimonio genético de una variabilidad enorme, el cual se ha conservado cultivado hasta nuestros días. Este patrimonio ha demostrado una gran variabilidad genética para casi todos los caracteres de interés agronómico, entre los que se encuentran aquéllos que nos pueden servir para

luchar contra los efectos negativos del cambio climático que se pronostica. Este patrimonio genético puede ser utilizado de manera directa, en base a ensayos comparativos, o como punto de partida para nuevas variedades que nos permitan diseñar nuevos olivares sostenibles tanto en el plano económico como en el ambiental.

El olivo ha sido durante milenios un cultivo de gran importancia comercial y social en gran parte de la Cuenca del Mediterráneo. Durante todo este tiempo se ha generado un patrimonio genético que en la actualidad está amenazado por la homogeneidad varietal de la nueva olivicultura y, en el futuro, por el cambio climático. La selección varietal y la mejora genética, que se encuentra todavía dando sus primeros pasos, pueden contribuir a superar estas amenazas y a que este antiguo cultivo siga acompañando al hombre durante muchos milenios más.

7. Bibliografía

- Aguilera, F., L. Ruiz, M. Fornaciari, B. Romano, C. Galán, J. Oteros, A. Ben Dhiab, M. Msallem, and F. Orlandi. 2014. Heat accumulation period in the Mediterranean region: phenological response of the olive in different climate areas (Spain, Italy and Tunisia). *Int. J. Biometeorol.* 58(5): 867–876.
- Alagna, F., M. Cirilli, G. Galla, F. Carbone, L. Daddiego, P. Facella, L. Lopez, C. Colao, R. Mariotti, N. Cultrera, M. Rossi, G. Barcaccia, L. Baldoni, R. Muleo, and G. Perrotta. 2016. Transcript Analysis and Regulative Events during Flower Development in Olive (*Olea europaea* L.) (E Albertini, Ed.). *PLoS One* 11(4): e0152943.
- Allalout, A., D. Krichene, K. Methenni, A. Taamalli, I. Oueslati, D. Daoud, M. Zarrouk, D. Krichène, K. Methenni, A. Taamalli, I. Oueslati, D. Daoud, and M. Zarrouk. 2009. Characterization of virgin olive oil from Super Intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Sci. Hortic.* 120(1): 77–83.
- Arcas, N., N. F. Arroyo López, J. Caballero, R. D'Andria, M. Fernández, A. Garrido, L. Rallo, R. Fernandez Escobar, J. López-Miranda, M. Msallem, M. Parras, and R. Zanolli. 2013. Present and future of the Mediterranean olive sector. *Int. Semin. Present Futur. Mediterr. Olive Sect.* 106(106): 207.
- Arias-Calderon, R., D. Rodriguez-Jurado, L. Leon, J. Bejarano-Alcazar, R. la Rosa, and A. Belaj. 2015. Pre-breeding for resistance to *Verticillium* wilt in olive: Fishing in the wild relative gene pool. *Crop Prot.* 75: 25–33.
- Arias-Calderon, R., H. Rouiss, D. Rodriguez-Jurado, R. de la Rosa, L. Leon, R. Arias-Calderón, H. Rouiss, D. Rodríguez-Jurado, R. de la Rosa, and L. León. 2014. Variability

- and heritability of fruit characters in olive progenies from open-pollination. *Sci. Hortic.* 169: 94–98.
- Atienza, S.G., R. de la Rosa, M.C. Domínguez-García, A. Martín, A. Kilian, and A. Belaj. 2013. Use of DArT markers as a means of better management of the diversity of olive cultivars. *Food Res. Int.* 54(2).
- Atienza, S.G.G., R. de la Rosa, L. León, A. Martín, and A. Belaj. 2014. Identification of QTL for agronomic traits of importance for olive breeding. *Mol. Breed.* 34(2): 725–737.
- Aybar, V.E., J.P. De Melo-Abreu, P.S. Searles, A.C. Matias, C. Del Río, J.M. Caballero, and M.C. Rousseaux. 2015. Evaluation of olive flowering at low latitude sites in argentina using a chilling requirement model. *Spanish J. Agric. Res.* 13(1): 1–10.
- Ayerza, R., and G.S. Sibbett. 2001. Thermal adaptability of olive (*Olea europaea* L.) to the Arid Chaco of Argentina. *Agric. Ecosyst. Environ.* 84(3): 277–285.
- Badenes, M.L. Byrne, D.H. 2012. *Fruit Breeding*. Springer Verlag. New York 875 pp.
- Baldi, P., P.J. Wolters, M. Komjanc, R. Viola, R. Velasco, and S. Salvi. 2013. Genetic and physical characterisation of the locus controlling columnar habit in apple (*Malus x domestica* Borkh.). *Mol. Breed.* 31(2): 429–440.
- Baldoni, L., and A. Belaj. 2009. Olive. p. 397–421. In J., V., I., R. (eds.), *Oil Crops. Handbook of plant breeding*. Springer Science Business Media, New York.
- Barranco, D., and L. Rallo. 2000. Olive cultivars in Spain. *Hort Technol.* 10: 4.
- Barranco, D., R. Fernandez-Escobar, and L. Rallo. 2017. *El cultivo del olivo*. Mundiprensa, Madrid.
- Bartolini G. 2008. Olive germplasm (*Olea europaea* L.): cultivars, synonyms, cultivation area, collections, descriptors. <http://www.oleadb.it/>
- Beghe, D., A. Ferrarini, T. Ganino, and A. Fabbri. 2011. Molecular characterization and identification of a group of local *Olea europaea* L. varieties. *Tree Genet. Genomes* 7(6): 1185–1198.
- Belaj, A., C. Muñoz-Diez, L. Baldoni, Z. Satovic, and D. Barranco. 2010. Genetic diversity and relationships of wild and cultivated olives at regional level in Spain. *Sci. Hortic.* 124(3): 323–330.
- Belaj, A., Gurbuz, M., Sikaoui, H., Moukhli, A., Khadari, B., Mariotti, R., Baldoni, L. 2016. Olive Genetic resources. E. Rugini et al. (eds.), *The Olive Tree Genome, Compendium of Plant Genomes*.
- Belaj, A., M. del Carmen Dominguez-Garcia, S. Gustavo Atienza, N. Martin Urdirroz, R.R. de la Rosa, Z. Satovic, A. Martin, A. Kilian, I. Trujillo, V. Valpuesta, C. Del Rio,

- M.D. Dominguez-García, S.G.S.G. Atienza, N. Martín Urdíroz, R.R. de la Rosa, Z. Saticovic, A. Martín, A. Kilian, I. Trujillo, V. Valpuesta, and C. Del Río. 2012. Developing a core collection of olive (*Olea europaea* L.) based on molecular markers (DARts, SSRs, SNPs) and agronomic traits. *Tree Genet. Genomes* 8(2): 365–378.
- Ben Sadok, I., J.-M. Celton, L. Essalouh, A.Z. El Aabidine, G. Garcia, S. Martinez, N. Grati-Kamoun, A. Rebai, E. Costes, and B. Khadari. 2013. QTL mapping of flowering and fruiting traits in olive. *PLoS One* 8(5): e62831.
- Ben Sadok, I., S. Martinez, N. Moutier, G. Garcia, L. Leon, A. Belaj, R. De La Rosa, B. Khadari, and E. Costes. 2015. Plasticity in Vegetative Growth over Contrasted Growing Sites of an F1 Olive Tree Progeny during Its Juvenile Phase. *PLoS One* 10(6): 19.
- Biton, I., A. Doron-Faigenboim, M. Jamwal, Y. Mani, R. Eshed, A. Rosen, A. Sherman, R. Ophir, S. Lavee, B. Avidan, and G. Ben-Ari. 2015. Development of a large set of SNP markers for assessing phylogenetic relationships between the olive cultivars composing the Israeli olive germplasm collection. *Mol. Breed.* 35(4):107.
- Breton, C., M. Tersac, and A. Bervillé. 2006. Genetic diversity and gene flow between the wild olive (oleaster, *Olea europaea* L.) and the olive: several Plio-Pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin suggested by simple sequence repeats analysis. *J. Biogeogr.* 33(11): 1916–1928.
- Caballero J.M., Del Río C., Navarro C., Garcia-Fernandez M.D., Morales J., Hermoso M., Del Olmo LA., Lopez F., Cera F., Ruiz G. .2005. Ensayos comparativos en Andalucía. In Rallo L., Barranco D., Caballero J., Martín A., Del Río C., Tous J., Trujillo I. (eds.) *Variedades de olivo en España*, Volume 2. MAPA, Ediciones Mundi-Prensa and COI, Sevilla, pp 383-394
- Caballero, J.M., del Río, C., Barranco, D., Trujillo, I. 2006. The Olive World Germplasm Bank of Cordoba, Spain. *Olea* 25:14–19
- Calderón, R., C. Lucena, J.L. Trapero-Casas, P.J. Zarco-Tejada, and J.A. Navas-Cortés. 2014. Soil Temperature Determines the Reaction of Olive Cultivars to *Verticillium dahliae* Pathotypes (M Bennett, Ed.). *PLoS One* 9(10): e110664.
- CAPDR 2008. El sector del Aceite de Oliva y de la Aceituna de mesa en Andalucía. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía: Sevilla, España.
- CAPDR 2014. Plan director del olivar. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. Junta de Andalucía: Sevilla, España.



- Casanova, L., M.P. Suarez, V.M. Fernandez-Cabanas, A.M. Morales-Sillero, M.R. Jimenez, and P. Rallo. 2014. From the juvenile to the adult vegetative phase in olive seedlings: The transition along the stem axis. *Spanish J. Agric. Res.* 12(4): 1149–1157.
- Castillo-Llanque, F.J., H.F. Rapoport, and H. Baumann Samanez. 2014. Irrigation withholding effects on olive reproductive bud development for conditions with insufficient winter chilling. *Acta Hortic.* 1057: 113–119.
- CEDEX. 2011. Evaluación del Impacto del Cambio Climático en Los Recursos Hídricos en Régimen Natural [Evaluation of the Impact of Climate Change in Water Resources under Natural Regime]. CEDEX: Madrid, España.
- Chuine, I., García de Cortazar-Ataur, I., Kramer, K., and Hanninen, H. 2013. Plant development models. In *Phenology: An Integrative Environmental Science*, Schwartz MD (ed). Springer: Dordrecht, The Netherlands, 275–285.
- Colella, C., C. Miacola, M. Amenduni, M. D'Amico, G. Bubici, and M. Cirulli. 2008. Sources of verticillium wilt resistance in wild olive germplasm from the Mediterranean region. *Plant Pathol.* 57(3): 533–539.
- Cuevas, J., L. Rallo, and H.F. Rapoport. 1994. Initial fruit set at high temperature in olive, *Olea europaea* L. *J. Hortic. Sci.* 69(4): 665–672.
- Cuevas, J., V. Pinillos, and V.S. Polito. 2009. Effective pollination period for “Manzanillo” and “Picual” olive trees. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 84(3): 370–374.
- Dag, A., G. Harlev, S. Lavee, I. Zipori, and Z. Kerem. 2014. Optimizing olive harvest time under hot climatic conditions of Jordan Valley, Israel. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 116(2): 169–176.
- De la Rosa, R., A. Angiolillo, C. Guerrero, M. Pellegrini, L. Rallo, G. Besnard, A. Bervillé, A. Martin, and L. Baldoni. 2003. A first linkage map of olive (*Olea europaea* L.) cultivars using RAPD, AFLP, RFLP and SSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 106(7): 1273–1282.
- De La Rosa, R., L. Leon, I. Moreno, D. Barranco, L. Rallo, L. León, I. Moreno, D. Barranco, and L. Rallo. 2008. Ripening time and fruit characteristics of advanced olive selections for oil production. *Aust. J. Agric. Res.* 59(1): 46–51.
- De la Rosa, R., L. Leon, N. Guerrero, L. Rallo, D. and Barranco, and D. Barranco. 2007. Preliminary results of an olive cultivar trial at high density. *Aust. J. Agric. Res.* 58(5): 392–395.
- De la Rosa, R., N. Talhaoui, H. Rouis, L. Velasco, and L. León. 2013. Fruit characteristics and fatty acid composition in advanced olive breeding selections along the ripening period. *Food Res. Int.* 54(2): 1890–1896.

- De Melo-Abreu, J.P., D. Barranco, A.M. Cordeiro, J. Tous, B.M. Rogado, F.J. Villalobos, and J. Demeloabreu. 2004. Modelling olive flowering date using chilling for dormancy release and thermal time. *Agric. For. Meteorol.* 125(1-2): 117-127.
- Domínguez-García, M.C., A. Belaj, R. De la Rosa, Z. Satovic, K. Heller-Uszynska, A. Kilian, A. Martín, and S.G. Atienza. 2012. Development of DArT markers in olive (*Olea europaea* L.) and usefulness in variability studies and genome mapping. *Sci. Hortic.* 136: 50-60.
- El Yaacoubi, A., G. Malagi, A. Oukabli, M. Hafidi, and J.M. Legave. 2014. Global warming impact on floral phenology of fruit trees species in Mediterranean region. *Sci. Hortic.* 180: 243-253.
- ESYRCE, 2017. Estadísticas agrarias. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio ambiente (www.mapama.gob.es).
- FAOSTAT 2016. Statistical Databases. Agriculture Data Collection (Primary Crops). FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy.
- Fernandez-Escobar, R., G. Gomez-Valledor, and L. Rallo. 1983. Influence of pistil extract and temperature on in vitro pollen germination and pollen tube growth of olive cultivars. *J. Hortic. Sci.* 58(2): 219-227.
- Fernández, J.-E.E. 2014. Understanding olive adaptation to abiotic stresses as a tool to increase crop performance. *Environ. Exp. Bot.* 103: 158-179.
- Fornaciari, M., L. Pieroni, P. Ciuchi, and B. Romano. 1998. A regression model for the start of the pollen season in *Olea europaea*. *Grana* 37(2): 110-113.
- Gabaldón-Leal, C., M. Ruiz-Ramos, R. de la Rosa, L. León, A. Belaj, A. Rodríguez, C. Santos, and I.J. Lorite. 2017. Impact of changes in mean and extreme temperatures caused by climate change on olive flowering in southern Spain. *Int. J. Climatol.* 37.
- Galán, C., H. García-Mozo, L. Vázquez, L. Ruiz, C.D. de la Guardia, and M.M. Trigo. 2005. Heat requirement for the onset of the *Olea europaea* L. pollen season in several sites in Andalusia and the effect of the expected future climate change. *Int. J. Biometeorol.* 49(3): 184-188.
- Galla, G., G. Barcaccia, A. Ramina, S. Collani, F. Alagna, L. Baldoni, N.G.M. Cultrera, F. Martinelli, L. Sebastiani, and P. Tonutti. 2009. Computational annotation of genes differentially expressed along olive fruit development. *BMC Plant Biol.* 9: 128.
- García-Inza, G.P., A.J. Hall, and M.C. Rousseaux. 2018. Proportion of oleic acid in olive oil as influenced by the dimensions of the daily temperature oscillation. *Sci. Hortic.* 227: 305-312.

- García-Inza, G.P., D.N. Castro, A.J. Hall, and M.C. Rousseaux. 2016. Opposite oleic acid responses to temperature in oils from the seed and mesocarp of the olive fruit. *Eur. J. Agron.* 76: 138–147.
- García, J.M., A. Morales-Sillero, A.G. Pérez-Rubio, A. Díaz-Espejo, A. Montero, and J.E. Fernández. 2017. Virgin olive oil quality of hedgerow “Arbequina” olive trees under deficit irrigation. *J. Sci. Food Agric.* 97(3): 1018–1026.
- Giannakopoulos, C., P. Le Sager, M. Bindi, M. Moriondo, E. Kostopoulou, and C.M. Goodess. 2009. Climatic changes and associated impacts in the Mediterranean resulting from a 2 °C global warming. *Glob. Planet. Change* 68(3): 209–224.
- Griggs, W.H., H.T. Hartmann, M. V Bradley, B.T. Iwakiri, and J.E. Whisler. 1975. Olive pollination in California. *Calif.Agr.Exp.St.Bull.* 869: 1–50.
- Gucci, R., E. Lodolini, H.F. Rapoport, B.R. Gucci, E. Lodolini, and H.F. and Rapoport. 2007. Productivity of olive trees with different water status and crop load. *J. Agric. Sci. Biotechnol.* 82(4): 648–656.
- Guerin, J., G. Mekuria, M. Burr, G. Collins, and M. Sedgley. 2003. Selection of improved olive cultivars. *Acta Hort.* (622): 231–234.
- Haberman, A., O. Bakhshian, S. Cerezo-Medina, J. Paltiel, C. Adler, G. Ben-Ari, J.A. Mercado, F. Pliego-Alfaro, S. Lavee, and A. Samach. 2017. A possible role for flowering locus T-encoding genes in interpreting environmental and internal cues affecting olive (*Olea europaea* L.) flower induction. *Plant. Cell Environ.* 40(8): 1263–1280.
- Hernandez, M.L., A. Belaj, M.D.D. Sicardo, L. Leon, R. de la Rosa, A. Martin, J.M. Martinez-Rivas, S.G.G. Atienza, M.L. Hernández, A. Belaj, M.D.D. Sicardo, L. León, R. de la Rosa, A. Martín, J.M. Martínez-Rivas, and S.G.G. Atienza. 2017. Mapping quantitative trait loci controlling fatty acid composition in olive. *Euphytica* 213(1): 12.
- IPCC 2014. *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Core Writing Team. Eds. Pachauri, R.K.; Meyer, L.A. IPCC: Geneva, Switzerland, 151 pp.
- Kaya, H.B., O. Cetin, H. Kaya, M. Sahin, F. Sefer, A. Kahraman, and B. Tanyolac. 2013. SNP Discovery by Illumina-Based Transcriptome Sequencing of the Olive and the Genetic Characterization of Turkish Olive Genotypes Revealed by AFLP, SSR and SNP Markers. *PLoS One* 8(9).
- Khadari, B., A.Z. El Aabidine, C. Grout, I. Ben Sadok, A. Doligez, N. Moutier, S. Santoni, and E. Costes. 2010. A Genetic Linkage Map of Olive Based on Amplified Fragment

- Length Polymorphism, Intersimple Sequence Repeat and Simple Sequence Repeat Markers. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 135(6): 548–555.
- Klepo, T., R. De la Rosa, Z. Satovic, L. León, and A. Belaj. 2013. Utility of wild germplasm in olive breeding. *Sci. Hortic.* 152:92-101.
- Koubouris, G.C., I.T. Metzidakis, and M.D. Vasilakakis. 2009. Impact of temperature on olive (*Olea europaea* L.) pollen performance in relation to relative humidity and genotype. *Environ. Exp. Bot.* 67(1): 209–214.
- Lavee, S. 2013. Evaluation of the need and present potential of olive breeding indicating the nature of the available genetic resources involved. *Sci. Hortic* 161: 333–339
- León, L., L. Velasco, and R. de la Rosa. 2015. Initial selection steps in olive breeding programs. *Euphytica* 201(3): 453–462
- León, L., R. Arias-Calderón, R. de la Rosa, B. Khadari, and E. Costes. 2016. Optimal spatial and temporal replications for reducing environmental variation for oil content components and fruit morphology traits in olive breeding. *Euphytica* 207(3): 675–684.
- Lumaret, R., N. Ouazzani, H. Michaud, G. Vivier, M.-F. Deguilloux, and F. Di Giusto. 2004. Allozyme variation of oleaster populations (wild olive tree) (*Olea europaea* L.) in the Mediterranean Basin. *Heredity* (Edinb). 92(4): 343–351.
- Medina-Alonso, G., Perdomo, A. 2015. Situación actual y perspectivas de futuro del cultivo del olivo en Tenerife. *Vida Rural* marzo 2015, 71-74.
- Medina, E., A. Morales-Sillero, E.M. Ramirez, P. Rallo, M. Brenes, C.C. Romero, E. Ma Ramirez, P. Rallo, M. Brenes, and C.C. Romero. 2012. New genotypes of table olives: Profile of bioactive compounds. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47(11): 2334–2341.
- Mkize, N., K.A. Hoelmer, and M.H. Villet. 2008. A survey of fruit-feeding insects and their parasitoids occurring on wild olives, *Olea europaea* ssp. *cuspidata*, in the Eastern Cape of South Africa. *Biocontrol Sci. Technol.* 18(10): 991–1004.
- Morales, A., Leffelaar, P.A., Testi, L., Orgaz, F., Villalobos, F.J. 2016. A dynamic model of potential growth of olive (*Olea europaea* L.) orchards. *Europ. J. Agronomy* 74:93-102.
- Moreno-alías, I., R. De la Rosa, H.F.H.F. Rapoport, R. De, and H.F.H.F. Rapoport. 2013. Floral quality components of a new olive cultivar and its parents. *Sci. Hortic.* 154: 17–19.
- Mulas, M. 2012. Study, collection and characterization of oleaster genetic resources. *Acta Hortic.* 948: 135–142.



- Navas-López J.F., León, L., Rapoport, H.F., Moreno-Alías, I., Medina, M.G., Santos, C., Porras, R., Lorite, I.J., de la Rosa, R. 2018. Flowering phenology and flower quality of cultivars 'Arbequina', 'Koroneiki' and 'Picual' in different environments of Southern Spain. *Acta Horticulturae*, *en prensa*
- Orlandi, F., C. Sgromo, T. Bonofiglio, L. Ruga, B. Romano, and M. Fornaciari. 2010b. Spring influences on olive flowering and threshold temperatures related to reproductive structure formation. *HortScience* 45(7): 1052–1057.
- Orlandi, F., H. Garcia-Mozo, C. Galan, B. Romano, C.D. de la Guardia, L. Ruiz, M. del Mar Trigo, E. Dominguez-Vilches, and M. Fornaciari. 2010a. Olive flowering trends in a large Mediterranean area (Italy and Spain). *Int. J. Biometeorol.* 54(2): 151–163.
- Orlandi, F., L. Ruga, B. Romano, and M. Fornaciari. 2005. Olive flowering as an indicator of local climatic changes. *Theor. Appl. Climatol.* 81(3–4): 169–176.
- Pérez López, D., Ruiz Ramos, M., Sánchez Sánchez, E., Centeno Muñoz, A., Prieto Egado, I., and López de la Franca, N. 2012. Influence of climate change on the flowering of temperate fruit trees. EGU2012-5774. EGU General Assembly, Vienna, Austria
- Perez-Lopez, B., F. Ribas, A. Moriana, H. Rapoport, and A. De Juan. 2008. Influence of temperature on the growth and development of olive (*Olea europaea* L.) trees. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 83(2): 171–176.
- Rallo, L. 2014. Breeding Oil and Table Olives for Mechanical Harvesting in Spain. *Hort-technology* 24(3): 295–300.
- Rallo, L., and R. Fernandez-Escobar. 1985. Influence of cultivar and flower thinning within the inflorescence on competition among olive fruit. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 110: 303–308.
- Rallo, L., D. Barranco, J.M. Caballero, A. Martin, C. Del Rio, J. Tous, and I. Trujillo. 2005. *Variedades de Olivo de España* (D Barranco, JM Caballero, A Martin, L Rallo, C Del Rio, J Tous, and I Trujillo, Eds.). Mundiprensa, Junta de Andalucía, Madrid.
- Rallo, L., D. Barranco, R. De La Rosa, and L. León. 2011. Advances in the joint UCO-IFAPA olive breeding program (JOBP). *Acta Horticulturae* 924: 283-290.
- Rallo, L., D. Barranco, R. De La Rosa, L. Leon, and L. León. 2008. "Chiquitita" olive. *Hort-Science* 43(2): 529–531.
- Rapoport, H.F., G. Costagli, and R. Gucci. 2004. The effect of water deficit during early fruit development on olive fruit morphogenesis. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 129(1): 121–127.

- Rapoport, H.F., S.B.M. Hammami, P. Martins, O. Pérez-Priego, and F. Orgaz. 2012. Influence of water deficits at different times during olive tree inflorescence and flower development. *Environ. Exp. Bot.* 77: 227–233.
- Reale, S., S. Doveri, A. Diaz, A. Angiolillo, L.P. Lucentini, A. Martin, Donini, and D. Lee. 2006. SNP - based markers for discriminating olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Genome* 49: 1135–1205.
- Ripa, V., F. De Rose, M.A. Caravita, M.R. Parise, E. Perri, A. Rosati, S. Pandolfi, A. Paoletti, G. Pannelli, G. Padula, E. Giordani, E. Bellini, A. Buccoliero, and C. Mennone. 2008. Qualitative evaluation of olive oils from new olive selections and effects of genotype and environment on oil quality. *Adv. Hortic. Sci.* 22(2): 95–103.
- Rodríguez Díaz, J.A., E.K. Weatherhead, J.W. Knox, and E. Camacho. 2007. Climate change impacts on irrigation water requirements in the Guadalquivir river basin in Spain. *Reg. Environ. Chang.* 7(3): 149–159.
- Rondanini, D.P., D.N. Castro, P.S. Searles, and M.C. Rousseaux. 2014. Contrasting patterns of fatty acid composition and oil accumulation during fruit growth in several olive varieties and locations in a non-Mediterranean region. *Eur. J. Agron.* 52: 237–246.
- Rosati, A., S. Caporali, S.B.M. Hammami, I. Moreno-Alias, A. Paoletti, and H.F. Rapoport. 2011. Differences in ovary size among olive (*Olea europaea* L.) cultivars are mainly related to cell number, not to cell size. *Sci. Hortic.* 130(1): 185–190.
- Sadok, I. Ben, S. Martinez, N. Moutier, G. Garcia, L. Leon, A. Belaj, R. De La Rosa, B. Khadari, and E. Costes. 2015. Plasticity in vegetative growth over contrasted growing sites of an F1 olive tree progeny during its juvenile phase. *PLoS One* 10(6): 1–19.
- Serrilli, A.M., G. Padula, V. Ripa, L. Petrosino, and A. Bianco. 2008. Searching new olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Analysis of phenolic fraction in olive selections derived from a breeding program. *Adv. Hortic. Sci.* 22(2): 104–109.
- Talhaoui, N., A.M.A.M. Gómez-Caravaca, L. León, R. De La Rosa, A. Fernández-Gutiérrez, and A. Segura-Carretero. 2016. From olive fruits to olive Oil: Phenolic compound transfer in six different olive cultivars grown under the same agronomical conditions. *Int. J. Mol. Sci.* 17(3): 1–14.
- Tanasijevic, L., M. Todorovic, L.S. Pereira, C. Pizzigalli, and P. Lionello. 2014. Impacts of climate change on olive crop evapotranspiration and irrigation requirements in the Mediterranean region. *Agric. Water Manag.* 144: 54–68.



- Torres, M., P. Pierantozzi, P. Searles, M.C. Rousseaux, G. García-Inza, A. Miserere, R. Bodoira, C. Contreras, and D. Maestri. 2017. Olive Cultivation in the Southern Hemisphere: Flowering, Water Requirements and Oil Quality Responses to New Crop Environments. *Front. Plant Sci.* 8: 1830.
- Tous, J., A. Romero, J. Plana, L. Guerrero, I. Díaz, and J.F. Hermoso. 1997. Características químico-sensoriales de los aceites de oliva «Arbequina» obtenidos en distintas zonas de España. *Grasas y Aceites* 48(6): 415–424.
- Tous, J., A. Romero, J.F. Hermoso, M. Msallem, and A. Larbi. 2014. Olive orchard design and mechanization: present and future. *Acta Hortic.* (1057): 231–246.
- Trentacoste, E.R., C.M. Puertas, and V.O. Sadras. 2012. Modelling the intraspecific variation in the dynamics of fruit growth, oil and water concentration in olive (*Olea europaea* L.). *Eur. J. Agron.* 38(1): 83–93.
- Vicente-Serrano, S., R. Trigo, J. López-Moreno, M. Liberato, J. Lorenzo-Lacruz, S. Bequería, E. Morán-Tejeda, and A. El Kenawy. 2011. Extreme winter precipitation in the Iberian Peninsula in 2010: anomalies, driving mechanisms and future projections. *Clim. Res.* 46(1): 51–65.
- Vivaldi, G., G. Strippoli, S. Pascuzzi, A.M. Stellacci, and S. Camposeo. 2015. Olive genotypes cultivated in an adult high-density orchard respond differently to canopy restraining by mechanical and manual pruning. *Sci. Hortic.* 192: 391–399.
- Vuletin Selak, G., J. Cuevas, S. Goreta Ban, V. Pinillos, G. Dumcic, and S. Perica. 2014. The effect of temperature on the duration of the effective pollination period in “Oblica” olive (*Olea europaea*) cultivar. *Ann. Appl. Biol.* 164(1): 85–94.
- Zeinanloo, A., A. Shahsavari, A. Mohammadi, and M.R. Naghavi. 2009. Variance component and heritability of some fruit characters in olive (*Olea europaea* L.). *Sci. Hortic.* 123(1): 68–72.
- Trujillo, I., Ojeda, M.A., Urdiroz, N.M., Potter, D., Barranco, D., Rallo, L., Muñoz-Diez, C., 2014. Identification of the Worldwide Olive Germplasm Bank of Córdoba (Spain) using SSR and morphological markers. *Tree Genet. Genomes* 10, 141–155.



Capítulo VIII.

SOLANÁCEAS ANTE EL CAMBIO CLIMÁTICO: RETOS Y MEJORA GENÉTICA

Joan Casals¹, Ana Fita², Mariola Plazas³, Joan Simó¹, Adrián Rodríguez-Burruezo^{2*}

- 1 Fundació Miquel Agustí-Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia (UPC-BarcelonaTech).
- 2 Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV). Universitat Politècnica de València.
- 3 Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universitat Politècnica de València.

*Coordinador: adrodbur@upvnet.upv.es

CONTENIDO:

1. Introducción
2. Cambio climático.
 - 2.1. Altas temperaturas
 - 2.2. Salinidad
 - 2.3. Estrés hídrico
 - 2.4. Anegamiento
3. Objetivos de mejora





4. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 4.1. Tomate
 - 4.2. Pimiento
 - 4.3. Berenjena
5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres
 - 5.1. Tomate
 - 5.2. Pimiento
 - 5.3. Berenjena
6. Agradecimientos
7. Bibliografía

Capítulo VIII.

SOLANÁCEAS ANTE EL CAMBIO CLIMÁTICO: RETOS Y MEJORA GENÉTICA

1. Introducción

Hablar de mejora para cambio climático en solanáceas, uno de los grupos de cultivos más amplios de la agricultura mundial, es una tarea inabordable si consideráramos todas las especies cultivadas que albergan. Así, en este capítulo nos centraremos en tres de las hortalizas más representativas en España y el mundo: tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pimiento y formas relacionadas (*Capsicum annuum* y *Capsicum spp.*) y berenjena (*Solanum melongena* L.), todas diploides y con número cromosómico $2n = 2x = 24$.

En primer lugar, el tomate es, después de la patata (*Solanum tuberosum* L.), la segunda especie hortícola más cultivada en el mundo, especialmente desde su introducción en Europa desde América a partir de los siglos XVI-XVII (si bien con muchas reticencias iniciales al igual que la patata), de donde se extendió a África, Asia y América del Norte (Villand et al., 1998). Actualmente, el cultivo de tomate está presente en 172 países, indicando una gran adaptación a diferentes ambientes agroclimáticos, así como la apetencia de los consumidores de distintas culturas por esta hortaliza. Pimiento (*Capsicum spp.*, 118 países) y berenjena (*Solanum melongena* L., 90 países), las otras solanáceas objeto de este capítulo, también muestran una amplia distribución mundial (FAOSTAT, 2018).

El tomate se cultiva en ambientes muy diversos, desde cultivos al aire libre de bajos insumos hasta invernaderos con alta tecnología y cultivo sin suelo, o siguiendo diferentes itinerarios técnicos (e.g. cultivo rastrero para industria o cultivo con tutores para consumo en fresco). Es una planta ideal para la investigación en hortalizas, modelo para estudiar la maduración en frutos climatéricos (Matas et al., 2009), con relativa facilidad de cultivo en ambientes muy diferentes, ciclo corto no sensible al fotoperiodo, elevado nivel de autofecundación y homocigosis, facilidad para realizar hibridaciones controladas, bajo nivel de duplicación génica, posibilidad de realizar multiplicación asexual y acceso a una gran librería de mutantes (Foolad, 2007).

En cuanto a pimientos, chiles y ajíes, estos términos tienen más de influencia histórica, lingüística y especialmente geográfica que distinción estricta de especies o taxones del género *Capsicum*. En realidad se trata de un grupo de cinco especies cultivadas y una treintena de silvestres que todavía hoy se recolectan de la naturaleza en muchas regiones de América (DeWitt y Bosland, 2009). Entre las cultivadas, el pimiento común (*C. annuum* L.) es la más popular y económicamente importante a nivel mundial, abarca una extraordinaria diversidad varietal y es la predominante en España. A esta especie pertenecen tipos dulces y tipos picantes, desde morrones hasta serranos de México, pasando por piquillos, jalapeños, padrones, poblanos, italianos, guindillas de encurtir, ñoras, etc. (Nuez et al., 2003; DeWitt y Bosland, 2009). *C. annuum* está relacionada con *C. chinense* Jacq. (e.g. Bhut Jolokia, Habanero, ajíes Mochero y Panca del Perú) y *C. frutescens* L. (e.g. Tabasco, Malagueta de Brasil), con las que puede hibridarse e integra el complejo *annuum-chinense-frutescens* (Manzur et al., 2015). Ambas son muy populares en su zona de origen, Caribe y Sudamérica amazónica, así como sur de EEUU África y Asia (DeWitt y Bosland, 2009). Por otro lado, *C. baccatum* L., de flor blanca y manchas verdes/amarillas en la base, y *C. pubescens* R. & P., de flor morada y semillas negras, son taxones filogenéticamente separados del complejo *annuum* y forman parte esencial de la gastronomía de los países andinos (DeWitt y Bosland, 2009).

Al contrario que otras solanáceas americanas como tomate o patata, el pimiento y sus formas relacionadas disfrutaron desde el descubrimiento de América de una extraordinaria popularidad, presentándose como alternativa a la apreciada pimienta asiática, cuyo comercio estaba controlado por los portugueses. Así, España se convirtió en puerta de entrada a Europa de un extraordinario flujo genético procedente de sus colonias americanas (Rodríguez-Burruezo et al., 2016). En paralelo, los comerciantes portugueses extendieron materiales con origen brasileño (*C. chinense* y *C. frutescens*) por sus colonias africanas y asiáticas. Durante este proceso, genotipos de lo que posteriormente Linneo clasificaría como *C. annuum* y *Capsicum spp.*, procedentes del centro de origen Americano, fueron imponiéndose e introduciéndose en la agricultura española y de otros países. Con el tiempo y fruto de un proceso de selección tradicional, surgió una plétora de ecotipos y materiales locales adaptados a condiciones agroclimáticas muy diversas (Nuez et al., 2003; Rodríguez-Burruezo et al., 2016), muchos de los cuales han llegado hasta nuestros días. Como consecuencia España es actualmente: i) principal productor de pimiento de Europa y el quinto junto a EEUU a nivel mundial, con aproximadamente 1.106 t anuales y ii) uno de los centros de diversidad más relevantes de *C. annuum* (Nuez et al., 2003; MAPAMA, 2017; FAOSTAT 2018).



La berenjena está entre los cultivos hortícolas más importantes, siendo el sexto cultivo en producción a nivel mundial con una producción de más 50.10⁶ t (FAOSTAT, 2018). Es la tercera solanácea más importante del mundo y ha sido ampliamente cultivada durante siglos en Asia, África, Europa y el Cercano Oriente. Su relevancia para la Humanidad queda reflejada en el hecho de que es uno de los 35 cultivos considerados más importantes y, como tal, incluidos en el Anexo 1 del Tratado Internacional sobre los Recursos Genéticos de Plantas para la Alimentación y Agricultura (Fowler et al., 2003). A nivel nacional es también uno de los cultivos hortícolas más importantes, con una producción superior a 244.500 t y un valor económico percibido por los agricultores de alrededor de 173 mill. € (MAPAMA, 2017). Se trata de un cultivo en auge, cuya producción está en claro aumento y mayoritariamente en cultivo intensivo bajo invernadero, concentrándose un 70% de la producción en Almería, y destinándose un 64% de la producción a exportación (Hortoinfo, 2017), fundamentalmente a la UE. Además, España es el principal exportador a nivel mundial con una tendencia creciente en este aspecto, pasándose de 20.000 t exportadas en 1992 a 132.000 t en 2012. Asimismo, más del 90% de la producción de berenjena se concentra en siete países, entre ellos China, Egipto, Turquía, India y Japón (Lucier y Jerardo, 2006).

Al contrario que el tomate o el pimiento, la berenjena es mucho menos susceptible a problemas fitopatológicos, aunque empieza a sufrir reducciones en su producción debido a condiciones climatológicas adversas, nuevas enfermedades, insectos, nematodos y malas hierbas, y también reducciones en la calidad del fruto (Daunay y Hazra, 2012). Además, actualmente muchas de las áreas de cultivo de la berenjena se están viendo afectadas por modificaciones dramáticas en los ambientes de cultivo, condiciones que se verán agravadas en el futuro, debido en gran medida al cambio climático.

Debemos tener en cuenta que la mayoría de programas de mejora genética modernos, especialmente tras la revolución verde, se han centrado en desarrollar cultivares con un elevado potencial productivo en ambientes favorables o de altos insumos (Fita et al., 2015a). En este contexto, el uso de tierras marginales para el cultivo ante la mayor demanda de alimentos y el fenómeno del cambio climático pueden provocar una desadaptación de las variedades cultivadas frente a las exigencias de los nuevos ambientes de cultivo. De ahí la necesidad de desarrollar programas de mejora genética que permitan una producción viable en ambientes con mayor incidencia de estreses abióticos (Foolad, 2006). A este respecto, la extraordinaria diversidad genética que albergan estos cultivos en la forma de variedades tradicionales y ecotipos adaptados a diferentes condiciones agroclimáticas, así como formas y especies silvestres relacio-

nadas, abren la puerta a la búsqueda de fuentes de tolerancia a los diferentes factores de estrés relacionados con el cambio climático (Fita et al., 2015a).

Adicionalmente, la introducción de la técnica del injerto en las producciones comerciales provocará un cambio importante en los esquemas de los programas de mejora genética. Esta técnica, conocida desde tiempos antiguos, se ha incorporado en las últimas décadas al cultivo de estas solanáceas, especialmente en tomate y más lentamente en pimiento y berenjena. Inicialmente como una estrategia para mejorar la resistencia de los cultivos a factores abióticos (salinidad, estrés hídrico, fertilidad) (Estañ et al., 2005; Guiffrida et al., 2014; Penella et al., 2016; Pereira et al., 2016) y bióticos (nematodos, hongos y bacterias presentes en el suelo) (Rivard y Louws, 2008; Kokalis-Burelle et al., 2009), si bien actualmente el uso de plantas injertadas se ha generalizado como una herramienta para incrementar el rendimiento del cultivo (Leal-Fernández et al., 2013). La combinación de dos genotipos en una sola “planta” permite avances más rápidos en mejora genética, dado que no es necesario acumular todos los alelos deseados en un solo genotipo.

2. Cambio climático

Según el informe del Parlamento Europeo sobre las consecuencias del cambio climático para la agricultura de la UE (Hart et al., 2017) las principales presiones sobre la agricultura, como resultado directo del cambio climático, son la disponibilidad de agua y su calidad, las variaciones totales de temperatura y temperaturas más extremas, presencia y persistencia de plagas y enfermedades, así como el riesgo de incendios. El Quinto informe del IPCC proporciona una evaluación exhaustiva de los impactos esperados del cambio climático en Europa con referencia específica hecha a los impactos en los sectores de la agricultura y la producción (Kovats et al, 2014).

El último informe de la Agencia Europea del Medio Ambiente señala a los países del sur de Europa como los más vulnerables a los riesgos derivados del cambio climático (EEA, 2017). Dentro de estos riesgos se destaca el de sufrir sequías con las consiguientes restricciones de caudales para regadíos y salinización secundaria. En España, la producción en regadío supone un 60% de la producción final agrícola nacional, dando idea del efecto que puede tener la restricción de agua sobre las rentas de los agricultores y en la productividad agraria española (del Campo, 2008), en particular en los cultivos hortícolas que en su mayoría son de regadío (MAPAMA, 2017). Dentro de las estrategias que se indican para hacer frente a las previsibles consecuencias del cambio

climático está mejorar los cultivos para que estén adaptados a condiciones más restrictivas de agua tanto en cantidad como en calidad.

En resumen, el impacto del cambio climático sobre el rendimiento y la calidad de los cultivos variarán en función de la zona y el sistema de cultivo. Entre los factores citados en la literatura científica disponible con impacto sobre la producción agrícola, la tolerancia a las altas temperaturas, la salinidad y el déficit hídrico se postulan como los más relevantes (Chapman et al., 2012).

2.1. ALTAS TEMPERATURAS

La predicción de un incremento de 1-3 °C durante el siglo XXI (Kovats et al., 2014) puede provocar importantes pérdidas en zonas de cultivo intensivo, como Almería o Murcia, donde las temperaturas elevadas ya son un factor limitante en determinadas épocas del año. La temperatura tiene una influencia directa sobre el metabolismo y afecta al crecimiento de la planta y a su rendimiento. Por lo que respecta a éste último, la viabilidad del polen es el factor determinante en el cuajado del fruto y por tanto del rendimiento en situaciones de estrés por altas temperaturas (Paupière et al., 2017).

El rango de temperaturas óptimas para la producción de tomate se sitúa entre 21-29 °C durante el día y 18-21 °C durante la noche, variando en función de la etapa de desarrollo (18-25 °C para la fase de crecimiento vegetativo, 19 °C para la antesis) (Benton, 2008). Las altas temperaturas tienen un efecto negativo sobre la producción, reduciendo la calidad del polen y el número de frutos por planta e incrementando las anomalías florales (Dorais et al., 2001). Diversos estudios han señalado que la reducción del cuajado del fruto por altas temperaturas (> 34 °C) puede superar el 50% (Abdul-Baki y Stommel, 1995), si bien otros autores han demostrado que a partir de 26-30 °C se observan los efectos negativos sobre la viabilidad del polen (Peet y Bartholemew, 1996). El desarrollo de cultivares tolerantes a elevadas temperaturas ha sido objeto de numerosos trabajos desde los años 1980 (Scott et al., 1986), y será uno de los principales retos para adaptar esta especie al fenómeno del cambio climático.

El pimiento, comparado en general con el tomate, es más exigente en condiciones agroclimáticas, resultando más termófilo (Nuez et al., 2003). Temperaturas inferiores a 15 °C retrasan o bloquean el desarrollo y los óptimos vegetativos se sitúan entre 23-30 °C diurnos y 18-20 °C nocturnos. A partir de 30 °C la formación del polen se ve afectada, reduciendo su fertilidad, mientras que la temperatura óptima de germinación del polen en el estigma es superior a la del tomate (25-35 °C) (Erickson y Markhart, 2002). La combinación de temperaturas > 35 °C con humedad relativa baja favorece la caída

de flores y frutos recién cuajados, y sólo en rangos de 35-45 °C la fotorrespiración puede provocar un balance energético negativo frente a la fotosíntesis (Nuez et al., 2003). Así, aunque sea necesario afrontar este factor de estrés, resulta menos acuciante que en el tomate y otras hortícolas. De hecho, un incremento de temperaturas nocturnas invernales en zonas de invernadero como Almería y especialmente Murcia y Valencia sería deseable, pues permitiría a los agricultores ahorrar combustible para calefacción, necesaria para alcanzar un buen cuajado y calidad visual del fruto, justo cuando tienen mayor valor añadido. No obstante, a finales de primavera (cultivo de invernadero) o en verano (al aire libre) este estrés ya empieza a manifestar sus efectos negativos en el cuajado y calidad del fruto, provocando bajos rendimientos o frutos aplastados sin semillas (“galletas”) (Nuez et al., 2003).

Aún más que el pimiento, la berenjena se considera un cultivo de verano, por lo que las temperaturas moderadamente altas son favorables, siendo su óptimo de crecimiento entre 22 °C y 30 °C durante el día y entre 15 °C y 20 °C durante la noche. Pese a su naturaleza termófila, las altas temperaturas superiores a 40 °C pueden llevar al estancamiento del crecimiento, aborto de botones florales, disminución del polen y su tasa de viabilidad, reducción del rendimiento y calidad de los frutos (Wu et al., 2014). Especialmente se ven afectados por las altas temperaturas los sistemas fotosintéticos de la planta, de hecho, los genotipos más tolerantes al calor poseen una mayor actividad del PSII bajo condiciones de estrés (Zhang et al., 2009). Dado que con el incremento de las temperaturas por efecto del cambio climático, éstas pueden rozar fácilmente en campo los 40 °C y superarlos con creces en los invernaderos, la mejora para la tolerancia a este factor ligado al cambio climático debería abordarse a corto-medio plazo al igual que en el pimiento.

2.2. SALINIDAD

El tomate es una especie mesofítica y la mayoría de cultivares comerciales son moderadamente sensibles a la salinidad. Las primeras fases de desarrollo son las más sensibles (germinación, plántula), dado que la tolerancia a la salinidad incrementa con la edad de la planta (Grandillo et al., 2013). Aproximadamente el 20% de la superficie agrícola irrigada y el 2% de la superficie de secano presentan niveles elevados de salinidad y las predicciones indican que el cambio climático acentuará la situación (Olesen y Bindi, 2002). El rendimiento del cultivo de tomate se ve afectado significativamente por la salinidad del suelo en valores de conductividad eléctrica superiores a 2,5 dS/m y el agua de riego se considera aceptable por debajo de los 3,0 dS/m (Benton, 2008). El efecto negativo en el



rendimiento por salinidad está más relacionado con la disminución del peso del fruto que con un menor número de frutos por planta (Van Ieperen, 1996). A niveles de salinidad $< 3,5$ dS/m la producción está limitada principalmente por desequilibrios nutricionales, dado que la disponibilidad de nutrientes es el principal factor limitante en estas condiciones. En contraste, a niveles > 6 dS/m, además de los desequilibrios nutricionales, los efectos osmóticos y la toxicidad de determinados iones contribuyen a la reducción en el rendimiento (Foolad, 2006). El efecto de la salinidad sobre el tamaño del fruto y el rendimiento es menor en cultivares de fruto pequeño tipo 'cherry' (Caro et al., 1991). Aparte del efecto sobre el rendimiento, la salinidad tiene también un impacto sobre la calidad del fruto, incrementando los niveles de azúcares y ácidos orgánicos, y disminuyendo la firmeza y la conservación postcosecha (Sakamoto et al., 1999).

El pimiento es mucho más sensible a la salinidad que el tomate y la berenjena, y a partir de $1,5$ dS/m la producción se empieza a resentir (Nuez et al., 2003). Así, el riego con agua salina o su cultivo en suelos salinizados (fundamentalmente por NaCl) reduce el rendimiento, causa senescencia prematura y reduce significativamente la calidad del fruto en muy diversas formas: reducción del tamaño, menores niveles de compuestos antioxidantes y mayor incidencia del blossom-end-rot o podredumbre apical (Aktas et al., 2006; Lerma et al., 2012). Aunque se trate de un cultivo bastante sensible, la respuesta de las plantas a la salinidad es muy variable en función de factores como condiciones agroclimáticas, tipo de suelo, genotipo, estado de desarrollo, sistema de irrigación, cantidad y frecuencia de riegos, y tiempo de exposición al agua salina (Aktas et al., 2006; Penella et al., 2016). Concentraciones moderadas de NaCl (30 mM) y/o concentraciones elevadas de la solución nutritiva producen un considerable efecto osmótico que disminuye la conductividad hidráulica, la conductancia estomática y el potencial de presión en los pimientos tipo 'California Wonder'. A estos niveles salinos moderados se ha descrito en plantas de pimiento una reducción de la absorción de Ca^{2+} y K^{+} , lo que aumenta la incidencia del blossom. A este respecto, la capacidad de las plantas para mantener altos niveles de Ca^{2+} y K^{+} y bajos de Na^{+} dentro del tejido, es uno de los mecanismos claves que permiten identificar plantas tolerantes a la salinidad. En general, los genotipos resistentes a la salinidad pueden mantener altos ratios de $\text{K}^{+}/\text{Na}^{+}$, reduciendo la absorción de Na^{+} , aunque a mayores concentraciones salinas de NaCl (> 50 - 60 mM) se empiezan a manifestar los efectos de toxicidad específicos de los iones Cl^{-} y Na^{+} (Aktas et al., 2006). El efecto de la variabilidad del cultivo frente a la tolerancia a condiciones salinas bajo diferentes condiciones ambientales requiere una evaluación y explotación de la interacción genotipo \times ambiente, con objeto de seleccionar los genotipos más tolerantes bajo cada ambiente de cultivo.

La berenjena se considera sensible a la salinidad pues a 1.5 dS/m se ve afectado el rendimiento de frutos, y a partir de 6.7 dS/m se observa una reducción en el peso seco vegetativo (Ülünkara et al., 2010). Como en otras solanáceas, la reducción en el crecimiento de las plantas por el estrés salino está relacionado con el aumento de Na^+ en los tejidos (especialmente en hojas), en la disminución de la capacidad fotosintética, la reducción de los niveles de K^+ y Ca^{2+} , observándose también incremento de actividad de enzimas antioxidantes (Hannachi et al., 2014). Estando por tanto la tolerancia de los genotipos descritos como tales relacionada con una menor acumulación de Na^+ en hojas y retención de K^+ y Ca^{2+} , y un aumento de los solutos orgánicos como prolina y glicinabetaína (Mustafa et al., 2017). Hannachi et al. (2014) también sugieren el uso de los valores del rendimiento cuántico efectivo de PSII (ϕ_{PSII}) como medida de cribado para la detección de cultivares tolerantes a la salinidad.

2.3. ESTRÉS HÍDRICO

El estrés hídrico, fundamentalmente en la forma de déficit hídrico, no ha sido una prioridad en los programas de mejora genética. Sin embargo, junto con temperatura y luz, la disponibilidad de agua es uno de los principales factores que determinan el crecimiento de la planta. Así, en la zona Mediterránea, las fases vegetativas y reproductivas de los cultivos de primavera-verano se ven generalmente afectados por etapas de estrés hídrico, lo que afecta al cierre estomático y por extensión a la fijación del CO_2 , la fotosíntesis y la síntesis de carbohidratos (Delfine et al., 2002). Considerando los efectos del cambio climático sobre el ciclo del agua, se prevé que los recursos hídricos sean más escasos en algunas zonas del planeta. En España, los cultivos que nos ocupan se cultivan mayoritariamente mediante sistemas de irrigación artificial, lo que permite optimizar la escasa agua disponible. Pero la disponibilidad de los recursos hídricos está menguando claramente y en un futuro próximo será imprescindible cultivar materiales con un uso más eficiente del agua que los actuales.

El tomate es una especie con elevados requerimientos hídricos, con valores de 2.000-6.000 m^3/ha en ambientes favorables y de 8.000 a 10.000 m^3/ha en ambientes con elevadas temperaturas y baja humedad ambiental (Geisenberg y Stewart, 1986). La planta utiliza el 90% del agua para la transpiración y solo el 10% para el desarrollo (Peet, 2005). Además, el cultivo de determinadas variedades tradicionales en sistemas agrícolas tradicionales de secano puede verse seriamente afectado por las variaciones previstas en la pluviometría (Galmes et al., 2011; Conesa et al., 2014), convirtiendo el sistema de cultivo tradicional en inviable en algunas zonas.



El pimiento, de forma similar al tomate, también es una planta exigente en agua. Es una de las plantas hortícolas más sensibles al estrés hídrico por su amplia superficie de transpiración foliar y su alta conductancia estomática (Alvino et al., 1994; Delfine et al., 2002). En cultivo bajo invernadero, los aportes necesarios varían en función de la climatología, momento del cultivo, textura del suelo, material de cubierta, etc., estando comprendidos entre 7.000 y 10.000 m³/ha para un ciclo de cultivo orientativo de noviembre a junio/julio, si bien el riego localizado moderno puede reducir considerablemente estas cantidades (Nuez et al., 2003). En cultivo extensivo al aire libre en España o sur de EEUU, con un ciclo más corto de primavera-verano y donde puede emplearse el riego por inundación, el rango de necesidades hídricas es más amplio, estando comprendido entre 3.000 y 10.000 m³/ha (Nuez et al., 2003). El estado hídrico del fruto del pimiento es un aspecto clave para la aparición y severidad del rajado o cracking, que deprecia considerablemente el valor del fruto. Asimismo, un déficit hídrico a partir del 30% reduce el rendimiento y tamaño del fruto y, dependiendo de la variedad, aumenta el contenido en materia seca, sólidos solubles y algunos antioxidantes (Lerma et al., 2012).

La berenjena tiene unos requerimientos hídricos similares a los del pimiento, aunque puede sobrevivir mejor bajo condiciones de sequía que otras solanáceas, siendo posible planificar limitación del riego durante algunas fases del desarrollo sin afectar a la productividad (Díaz-Pérez y Eaton, 2015). Probablemente, un mejor control estomático y un mejor rendimiento de la fotosíntesis son los factores fundamentales que mantienen el estado fisiológico de las plantas en condiciones de estrés hídrico (Behboudian, 1997a, b). Fu et al. (2013) analizaron los cambios morfológicos y ultraestructurales que ocurrían en las hojas de plantas de berenjena bajo estrés hídrico, y observaron un aumento en la densidad de estomas y tricomas así como una reducción del número de cloroplastos, aumento de los gránulos osmofílicos y reducción de gránulos de almidón en condiciones de estrés. Por otro lado, hay variación de los niveles de tolerancia que la berenjena puede soportar en condiciones de sequía (Manaday et al., 2013; Bhatt et al., 2014; Fita et al., 2015b).

2.4. ANEGAMIENTO

El cambio climático no sólo implica un proceso de calentamiento global que dará lugar a menos agua disponible y de peor calidad. También se están advirtiendo episodios de gran inestabilidad climática que dan lugar a lluvias torrenciales, las cuales pueden provocar importantes pérdidas en cultivos de tomate, pimiento y berenjena al

aire libre, especialmente en suelos con poco drenaje. Ya sea directamente por asfixia radicular como indirectamente por la aparición de agentes patógenos. Asimismo, la anaerobiosis estimula la producción de etileno, provocando alteraciones en el desarrollo vegetativo de la planta y una disminución en el rendimiento.

De forma similar al estrés hídrico y la salinidad, el anegamiento provoca alteraciones fisiológicas, metabólicas y hormonales importantes en el tomate, afectando negativamente a su crecimiento y desarrollo (Rudich y Luchinsky, 1986). El principal efecto del anegamiento es el límite de la difusión del oxígeno hacia la zona radicular (*i.e.* condiciones anaeróbicas). La respuesta de la planta de tomate al anegamiento ha sido ampliamente estudiada, implicando la formación de raíces adventicias, epinastia en la hoja y formación de aerénquimas (Vidoz et al., 2016).

El pimiento y la berenjena han sido descritos como cultivos poco tolerantes al exceso de agua, especialmente ésta última es muy sensible a la asfixia por inundación (Stommel y Albrecht, 2012; Bhatt et al., 2014). De hecho, requieren suelos con buen drenaje y ausencia de problemas de encharcamiento, pudiendo tener mermas sensibles en la producción y siendo vía de entrada de numerosos patógenos como *Phytophthora capsici*, *Verticillium* y *Pseudomonas* entre otros (Nuez et al., 2003; Bhatt et al., 2014). De forma directa, la exposición al encharcamiento provoca diversos cambios en la fisiología del pimiento, viéndose afectados el contenido en pigmentos fotosintéticos, la tasa fotosintética y la conductancia estomática, y con grandes incrementos en prolina, si bien existen diferencias entre especies *Capsicum* en la respuesta para estos parámetros, siendo *C. pubescens* la que muestra aparentemente mayor tolerancia (Ou et al., 2011). En berenjena se ven afectadas la tasa fotosintética y la conductancia estomática debido a un cierre brusco de los estomas frente a la inundación (Bhatt et al., 2014). Por otro lado, el incremento de los niveles de ascorbato peroxidasa (APX) en las raíces parece estar relacionado con la tolerancia al encharcamiento en berenjena (Lin et al., 2010).

3. Objetivos de mejora

La mejora genética moderna de pimientos, berenjenas y en particular de tomates ha conseguido, en el último siglo, progresos significativos, principalmente en el comportamiento agronómico, la resistencia a patógenos y la conservación poscosecha (Labate et al., 2007; Prohens y Rodríguez-Burruezo, 2010). Los nuevos ambientes de cultivo que se derivarán del fenómeno del cambio climático implicarán una mayor in-

cidencia de estreses abióticos en los cultivos, por lo que la mejora para resistencia a elevadas temperaturas, salinidad, estrés hídrico y anegamiento deberán ser protagonistas en los ideotipos de los programas de mejora genética (Foolad, 2006).

Entre estos nuevos objetivos, la mejora para resistencia a elevadas temperaturas es seguramente uno de los pocos caracteres que se han considerado históricamente en los programas de mejora de tomate, habiéndose desarrollado desde hace décadas numerosos cultivares con un cuajado y rendimiento aceptable en estas condiciones (e.g. Scott et al., 1986; Hanna et al., 1992; Gil et al., 2004). En el caso del pimiento, por su naturaleza termófila, los mayores esfuerzos se han dirigido a la mejora para condiciones salinas y de déficit hídrico en detrimento de la respuesta a altas temperaturas. No obstante, este factor está empezando a cobrar mayor importancia y desde el inicio de este siglo se están iniciando trabajos de identificación y selección de materiales con mejor respuesta/tolerancia a las temperaturas superóptimas, así como a profundizar en los efectos de este factor sobre diversos aspectos fisiológicos, reproductivos y del cuajado del fruto (e.j. Erickson y Markhart, 2002; Pagamas y Nawata, 2008; Usman et al., 2014). En el caso de la berenjena, la mejora para altas temperaturas no ha sido considerada en Europa pero sí en China, donde las altas temperaturas no permiten un cultivo adecuado de la berenjena en el norte de este país (Wang et al., 2007), identificando cultivares tolerantes y mejorando los existentes para esta característica (Ruihong y Shifu, 2008; Li et al., 2009).

Históricamente, el esfuerzo invertido en la mejora del resto de caracteres ha sido menor. No obstante, hay numerosos trabajos de respuesta a la salinidad en tomate, aunque más enfocados a la adaptación y respuesta fisiológica para adaptar el cultivo a condiciones extremas de suelos y aguas salinizadas, propias de regiones como la mediterránea (Bolarín et al, 1991; Cuartero et al., 2006). Actualmente, las líneas de trabajo ya se abordan en mayor medida desde la perspectiva del cambio climático (Pineda et al., 2012). En el caso del pimiento, su naturaleza especialmente sensible frente a la salinidad, ha impedido su cultivo en zonas afectadas donde el tomate sí se podía cultivar y, por extensión, este objetivo de mejora no se ha abordado hasta fechas relativamente recientes (Nuez et al., 2003). De hecho, se sabe relativamente poco sobre los mecanismos de tolerancia a sal en *Capsicum* (Bojórquez-Quintal et al., 2014). En la actualidad, se están desarrollando trabajos de cribados de materiales con buena respuesta a condiciones moderadamente salinas (e.j. Penella et al., 2015). En berenjena no existen programas de mejora específicos frente a salinidad más allá de cribados de material y estudios de los efectos de la salinidad sobre unos pocos genotipos (Hannachi et al., 2014; Mustafa et al., 2017).

Por lo que respecta a la tolerancia a la sequía, como se comentó anteriormente, la actividad fotosintética y el crecimiento celular son los primeros procesos afectados por este factor de estrés abiótico (Chaves et al., 2009). Estos efectos pueden ser directos, por la disminución de la disponibilidad de CO_2 debida a limitaciones en la difusión estomática o del mesófilo (Flexas et al., 2007), o por modificaciones en el metabolismo de la fotosíntesis, que provoca alteraciones secundarias como son el estrés oxidativo (Chaves et al., 2009). En pimiento, los estudios pioneros relativos al estrés hídrico sobre la fisiología, el metabolismo y mecanismos de defensa se iniciaron a partir de principios de siglo (e.j. Delfine et al., 2002; Fernández et al., 2005; Sziderics et al., 2010). Más recientemente se han abordado trabajos de cribado de materiales que han permitido identificar materiales con una alta eficiencia en el uso del agua y potenciales fuentes de interés para la mejora de este carácter en *Capsicum* (Penella et al., 2014). Como se ha indicado anteriormente, la berenjena es más tolerante al déficit hídrico y por este motivo son pocos los estudios sobre materiales tolerantes o la mejora de los mismos. Manaday et al. (2013) encontraron diferencias en la tolerancia en un pool de 67 accesiones de berenjena junto con accesiones de especies relacionadas. Fita et al. (2015b) y Plazas et al. (2016a) también encontraron diferencias dentro de la berenjena cultivada, como entre ésta y especies silvestres relacionadas. Además de las medidas de biomasa, de efectos sobre la fotosíntesis y de enzimas antioxidantes, algunos autores han citado la presencia de ciertos metabolitos como un buen indicador de tolerancia (Mibei et al., 2018).

Una importante razón que ha limitado los trabajos de mejora para salinidad y sequía reside en la dificultad para fenotipar colecciones grandes de germoplasma bajo estas condiciones. No obstante, la información acumulada en los últimos años sobre los mecanismos fisiológicos y la base genética de la tolerancia a los distintos estreses abióticos, tanto a nivel celular como de la planta (Munns, 2005; Joo et al., 2016), así como el desarrollo de nuevas herramientas biotecnológicas (Stommel y Albrecht, 2012; Gerszberg y Hnatuszko-Konka, 2017) abren la puerta a realizar una selección eficiente para estos caracteres.

No se debe perder la perspectiva de que la tolerancia a los estreses abióticos depende en gran medida del estado de desarrollo de una planta, por lo que la tolerancia en una etapa del desarrollo generalmente no es extrapolable a otras etapas del ciclo biológico (Foolad y Lin, 1997). Por ello, el desarrollo de cultivares tolerantes a estreses abióticos debe contemplar una tolerancia en todas las etapas de desarrollo de la planta, incluyendo la germinación, el desarrollo vegetativo, la floración y la fructificación. Además, los diferentes estreses abióticos están generalmente interrelacionados en los ambientes de cultivo, y en la mayoría de los casos afectan a las plantas simultáneamen-

te. Por ello el desarrollo de nuevos cultivares tolerantes debe contemplar un enfoque multi-carácter y evaluar la tolerancia en múltiples fases de desarrollo del cultivo, haciendo más complejas las metodologías de fenotipado (Gerszberg y Hnatuszko-Konka, 2017). Además, la caracterización de la tolerancia a estreses abióticos en condiciones de campo es poco eficiente (Richards, 1996), y la precisión y repetitividad de los resultados depende del uso de instalaciones que permitan un control riguroso de los factores ambientales. La identificación de genes responsables de la tolerancia a los estreses abióticos y el desarrollo de marcadores moleculares que permitan una selección eficiente en los programas de mejora genética será de crucial relevancia para conseguir avances significativos en este campo (Foolad, 2006; Pineda et al., 2012).

Con independencia de la búsqueda e introgresión de genes relacionados con la tolerancia a los estreses mencionados, el uso del injerto en tomate, pimiento y berenjena ofrece una alternativa prometedora para la mejora genética de estos caracteres. En especial, habida cuenta del complejo control genético que presumiblemente presentan los diferentes mecanismos de tolerancia. Así, La combinación de dos genotipos en una sola planta permite diseñar diferentes ideotipos que serán combinados posteriormente. El sistema radicular (*i.e.* el portainjertos) juega un rol central en la tolerancia a estreses abióticos (salinidad, estrés hídrico o anegamiento) y bióticos (patógenos presentes en el suelo) (Estañ et al., 2005; Wang et al., 2007; Schwarz et al., 2010; Giuffrida et al., 2014, por lo que la mejora específica para portainjertos tolerantes a estreses abióticos será un objetivo importante en los programas de mejora genética. Además, esta técnica permite el uso de variedades con bajo valor comercial del fruto pero dotadas de un sistema radicular que confieren un comportamiento agronómico superior a la parte aérea (*i.e.* la variedad), o incluso el cultivo directo de especies silvestres o híbridos inter-específicos [como el caso del cv. Beaufort (*S. lycopersicum* x *S. habrochaites*), uno de los portainjertos más utilizados en España]. Además esta técnica puede permitir rebasar la correlación negativa por pleiotropía o ligamiento entre genes de tolerancia y caracteres de calidad, dado que los genes de tolerancia no son introducidos en la variedad, sino únicamente en el porta-injerto (Estañ et al., 2005).

4. Biotecnología aplicada a la mejora genética

4.1. TOMATE

El uso de las técnicas clásicas de mejora ha dado buenos resultados en el caso de la tolerancia a elevadas temperaturas, pero se ha revelado poco eficiente para el resto de estreses abióticos, debido a la herencia poligénica de alguno de estos carac-

teres y a la dificultad de desarrollar técnicas de fenotipado eficientes (Grandillo et al., 2013). En este contexto, la identificación de genes o QTL (loci de caracteres cuantitativos) asociados a la tolerancia a estreses abióticos ha sido un objetivo prioritario en los programas de mejora genética. Numerosos genes, la expresión de los cuales incrementa en respuesta al estrés hídrico o a la salinidad, han sido clonados y descritos en la literatura científica (Labate et al., 2007; Pineda et al., 2012; Gerszberg y Hnatuszko-Konka, 2017).

Teóricamente, el uso de marcadores moleculares asociados a estos QTLs puede permitir el desarrollo de cultivares con mayor tolerancia, mediante programas de mejora asistida por marcadores moleculares (MAS). No obstante, la aplicación del MAS al desarrollo de cultivares resistentes ha sido poco eficiente, tanto en el tomate como en otras especies agrícolas importantes (Foolad y Panthee, 2012), debido a la existencia de relaciones epistáticas y a la fuerte interacción genotipo×ambiente de estos caracteres (Cuartero et al., 2006), si bien se han descrito algunos resultados positivos (Monforte et al., 1996). Desde los años 1990, se han publicado numerosos trabajos describiendo una mejora de la tolerancia a estreses abióticos mediante transgénesis (Cuartero et al., 2006; Labate et al., 2007; Gerszberg y Hnatuszko-Konka, 2017). En la mayoría de los casos se han insertado factores de transcripción que inducen o inhiben la expresión de los genes relacionados con la tolerancia al estrés (Liedl et al., 2013). Algunos estudios han obtenido resultados prometedores, como el desarrollo de plantas transgénicas sobre-expresando el gen *AtNHX1*, introducido desde *Arabidopsis thaliana*, y que fue el primer caso descrito de una transformación de un solo gen que resultó en un incremento significativo de la tolerancia a la salinidad (Zhang y Blumwald, 2001).

Si bien el uso de las herramientas de transformación/edición génica han permitido avances significativos en el conocimiento de los mecanismos relacionados con la respuesta de la planta al estrés, según diversos autores no se puede concluir que las nuevas herramientas biotecnológicas hayan permitido, por el momento, obtener variedades con un nivel de tolerancia suficiente desde un punto de vista agronómico (Pineda et al., 2012). De hecho, actualmente no existe ningún evento transgénico aprobado a nivel comercial relacionado con la tolerancia a estreses abióticos. Los avances en el campo de la biotecnología, como el desarrollo de métodos más robustos de análisis del transcriptoma (Pineda et al., 2012), o la edición genética mediante CRISPR/Cas9 (Wang et al., 2017a), pueden permitir una mejor disección de los mecanismos responsables de la tolerancia al estrés abiótico y por tanto una mejora en la eficiencia de los programas de mejora.



4.2. PIMIENTO

Como venimos diciendo en este capítulo, la investigación y mejora de caracteres y parámetros relacionados con la tolerancia a estreses debidos al cambio climático es muy reciente en *C. annuum* y otros *Capsicum*. Esta novedad ha motivado que los aspectos más biotecnológicos de la mejora estén en sus albores en comparación con otros cultivos. Hay numerosos estudios de interés en expresión de genes relacionados con la respuesta a estreses abióticos, cDNAs e incluso la reciente secuenciación del genoma del pimiento, que abren las puertas para profundizar en la mejora de estos caracteres (Qin et al., 2014). Sin embargo, no se han desarrollado marcadores moleculares monogénicos o, alternativamente, QTL relacionados con la respuesta diferencial a estreses abióticos. Asimismo, la naturaleza recalcitrante del género *Capsicum* frente a las técnicas de transformación genética ha supuesto un obstáculo más en el estudio de genes y rutas implicadas en la tolerancia a estos estreses.

Así, entre los primeros estudios de expresión génica diferencial, figuran los trabajos relacionados con la búsqueda de mecanismos de defensa frente a bajas temperaturas en forma de nivel de transcritos regulados por frío en *C. annuum*, basándose en análisis microarray cDNA. Fruto de estos trabajos, se identificaron varios genes inducidos por frío, otros por estrés salino y un grupo de ellos inducidos simultáneamente por ambos estreses (e.g. CaEREBP-C3, CaBZ1, malato deshidrogenasa y fosfatasa proteica CaTPP1) (Hwang et al., 2005). En fechas cercanas, Zeba et al. (2006) identificaron en *C. annuum* el gen *CaRZFP1*, un factor de transcripción de tipo dedos de cinc, como factor implicado en la tolerancia a altas temperaturas. Posteriormente, Isbat et al. (2009) y Zhu et al. (2011) identificaron otros genes en *C. annuum*, denominados respectivamente *CaBI-1* y *CaHSP24* (del grupo heat-shock proteins), a los que también se atribuyó capacidad de resistencia a este estrés.

Otro estudio de gran interés fue el desarrollado por el grupo de Seong y Wang (2008), que sobre la base de la respuesta a estreses mediada por ácido abscísico, planteó que el nivel de expresión del gen *CaAbsi1* estaría relacionado con la respuesta en *Capsicum* a un amplio rango de estreses abióticos como exposición a NaCl, bajas temperaturas y otros factores que motivan estrés oxidativo y por ABA.

Más recientemente, Maurya et al. (2015) han identificado nuevos genes de *C. annuum*, *CaDREBLP1*, *CaRma1H1*, *CaKR1*, *CaOSM1*, que podrían estar relacionados con la respuesta diferencial al estrés salino. Y en los últimos años se han sucedido nuevos estudios que han ampliado el número de genes implicados en la tolerancia a diversos estreses. Así, se han caracterizado varios genes del grupo BiP en *C. annuum*

(*CaBiP1*, *CaBiP2* y *CaBiP3*), habiéndose relacionado la sobreexpresión de *CaBiP1* con tolerancia tanto a altas temperaturas como a déficit hídrico al reducir el estrés oxidativo (Wang et al., 2017b). En la misma línea, Guo et al. (2014) identificaron otro gen heat-shock protein en *C. annuum*, *CaHsp70-1*, con niveles de expresión más altos a temperaturas de 40 °C, sugiriendo su papel defensivo frente al estrés por altas temperaturas. Finalmente, se ha identificado uno de los genes más recientes como regulador positivo de la respuesta a sequía basada en ácido abscísico, denominado *CaDRT1*, cuya sobreexpresión en *Arabidopsis* produce fenotipos tolerantes al déficit hídrico, reduciendo pérdidas de agua estomática, incrementando el cierre de estomas y la temperatura foliar, y mejorando la expresión de otros genes relacionados con el déficit hídrico (Baek et al., 2016).

Finalmente, a pesar de las dificultades técnicas para obtener transgénicos en pimiento, en un estudio pionero reciente ha sido posible mejorar la tolerancia a estrés salino en *C. annuum* mediante la sobreexpresión del gen antiportador Na^+/H^+ *TaNHX2* de trigo (Bulle et al., 2016).

4.3. BERENJENA

Pese a la existencia de estudios sobre la función de algunos genes implicados en la respuesta a salinidad (Li et al., 2016), o a la respuesta al frío (Zhou et al., 2018), la mejora frente a los retos del cambio climático no está muy desarrollada en berenjena. Si excluimos la resistencia a estreses bióticos, hasta el momento no hay descritos ni QTLs, ni marcadores moleculares asociados a los caracteres de tolerancia frente a los estreses abióticos asociados con el cambio climático.

Sí que existen algunos estudios de expresión génica y de análisis de cDNA que resultan útiles como primera aproximación. Por ejemplo, Chen et al. (2012) construyeron una biblioteca de cDNA aislando genes que confieren tolerancia a salinidad de las hojas de (*Solanum torvum* Swartz). Li et al. (2011), también mediante el estudio de cDNAs y expresión génica, identificaron genes relacionados con la respuesta a shock por altas temperaturas. Por último, Lin et al. (2010) utilizaron la técnica de hibridación sustractiva por supresión para identificar unigenes relacionados con la respuesta al estrés por inundación.

La secuenciación del genoma y del transcriptoma de berenjena (Yang et al., 2014) ha facilitado el desarrollo de un amplio número de herramientas genómicas (Hirakawa et al., 2014), destacando un importante número de marcadores SNP de regiones codificantes (Acquadro et al., 2017). Más concretamente, se ha aprovechado la capacidad

de secuenciación de los nuevos sistemas y la bioinformática para identificar miRNAs de respuesta al estrés salino a partir de raíces de *S. linnenanum* (Zhuang et al., 2014) y de respuesta al frío a partir de *S. aculeatissimum* (Yang et al., 2017).

La tecnología transgénica tampoco ha sido utilizada en demasía en berenjena. Se han conseguido buenos resultados tanto sobreexpresando el gen bacteriano del manitol-1-phosphodeshidrogenasa (*mt1D*) como el de la arginina decarboxilasa, proveniente de avena y que participa en la ruta metabólica de las poliaminas, consiguiendo tolerancia a estreses abióticos (salinidad, sequía, temperaturas extremas y metales pesados) como bióticos (a patógenos fúngicos) (Prabhavathi y Rajam, 2007). Por último, la expresión de genes con motivos *DREB1A* también supuso un éxito en la tolerancia a la sequía en berenjena (Sagare y Mohanty, 2012). Curiosamente, se ha utilizado cDNA de ascorbato peroxidasa de berenjena para transformar arroz para su resistencia a la inundación en los primeros estadios de desarrollo (Chiang et al., 2015).

5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres

5.1. TOMATE

En general, podemos asumir que existe poca variación para tolerancia a estreses abióticos en el pool genético del tomate cultivado, si bien en la literatura se han documentado diferentes fuentes de variabilidad para tolerancia a la salinidad (Foolad y Lin, 1997; Fellner y Sawhney, 2001) estrés hídrico o elevadas temperaturas (Paupière et al., 2017). En algunos casos, las fuentes de variabilidad se han descrito en variedades tradicionales españolas, como por ejemplo la elevada eficiencia en el uso del agua descrita en la variedad tradicional 'Ramellet' (Galmes et al., 2011). No obstante, por la presión de selección que han sufrido, se considera que las especies silvestres son mejores candidatas para encontrar fuentes de tolerancia. Por ejemplo, la especie emparentada *S. pimpinellifolium* crece en hábitats en los que la temperatura puede oscilar entre 28 y 31 °C, por lo que debe presentar mecanismos de adaptación a elevadas temperaturas (Paupière et al., 2017).

Por otro lado, *S. pennelli* está adaptado a los acantilados de la costa de Perú y *S. chilense* se encuentra en el desierto de Atacama en el norte de Chile, ambientes áridos con muy poca pluviometría, por lo que representan fuentes de variabilidad genética para tolerancia a estrés hídrico (Labate et al., 2007). Otra especie interesante para mejora de la tolerancia a estrés hídrico es *S. pimpinellifolium* (Foolad et al., 2003). En relación con la tolerancia a la salinidad, el estudio de la diversidad genética existente

en las especies silvestres ha sido mucho más amplio, habiéndose identificado genotipos interesantes en la mayoría de especies silvestres emparentadas con el tomate cultivado (*S. pimpinellifolium*, *S. chilense*, *S. cheesmaniae*, *S. galapagensis*, *S. pennellii* y *S. peruvianum*) (Foolad, 2004; Grandillo et al., 2013).

Por contra, se ha prestado mucha menos atención a la diversidad genética para tolerancia al anegamiento, habiéndose descrito pocas fuentes de variabilidad genética para este carácter. Acciones de *S. juglandifolium* y *S. ochranthum* han sido clasificadas como tolerantes (Robertson y Labate, 2007), no obstante cabe esperar que existan materiales interesantes en especies más emparentadas filogenéticamente con el tomate.

5.2. PIMIENTO

Las especies silvestres *Capsicum* apenas se han utilizado en la mejora del pimiento común *C. annuum*. Los principales caracteres de interés agronómico han procedido generalmente de las especies cultivadas, mayoritariamente la propia *C. annuum*, las otras dos especies cultivadas del complejo *annuum*, i.e. *C. chinense* y *C. frutescens*, y en los últimos años está empezando a cobrar importancia *C. baccatum* frente a algunos patógenos (Manzur et al., 2015). Ocasionalmente, alguna silvestre como *C. chacoense* también se ha empleado para introducir resistencias a patógenos.

Sin embargo, hasta el momento, con la única salvedad de algunos trabajos exploratorios frente a salinidad o déficit hídrico (e.g. Penella et al., 2014 y 2015), apenas se ha explorado la extraordinaria diversidad de las especies cultivadas *Capsicum*, y mucho menos las silvestres, para estreses asociados al cambio climático. A este respecto, la propia *C. annuum*, con ecotipos adaptados a muy diversas condiciones agroclimáticas, es un pool genético que permanece por explotar. Del mismo modo su ancestro silvestre el chiltepín (*C. annuum* var. *glabrisculum*), cuyas poblaciones se pueden encontrar desde las húmedas selvas del sur de México hasta las áridas y extremas regiones desérticas del norte de México y sur de EEUU (Kraft et al., 2013) es una fuente de variación que también puede resultar de extraordinario interés para afrontar el cambio climático en este cultivo, junto a *C. chinense* y *C. frutescens*. Asimismo, *C. baccatum* (y sus formas silvestres) domesticado en el altiplano del sur de Bolivia y norte de Argentina y sur de Brasil es otro pool genético por explorar, especialmente en términos de déficit hídrico y salinidad. Adicionalmente, *C. pubescens* adaptado a las tierras altas y húmedas de las sierras andinas, tiene grandes posibilidades como fuente de interés para estreses como bajas temperaturas y exceso de humedad (Nuez et al., 2003).



5.3. BERENJENA

Contrariamente a otros cultivos de hortalizas, como el tomate, el uso de especies silvestres relacionadas en el cultivo de berenjenas ha sido muy limitado (Daunay y Hazra, 2012). Estas especies silvestres relacionadas con la berenjena crecen en una amplia gama de condiciones, incluyendo condiciones extremas, como áreas desérticas, ambientes con amplias gamas de temperaturas (Syfert et al., 2016), temperaturas nocturnas inferiores a 0 °C, áreas inundadas y pantanosas, etc. (Daunay y Hazra, 2012), siendo por tanto un material inestimable para incrementar el acervo genético de la berenjena frente al cambio climático. De hecho, debido a su tolerancia a los estreses abióticos y bióticos, estas formas silvestres se han utilizado como portainjerto de berenjenas y tomates (Daunay et al., 1991). Estas especies silvestres se clasifican en germoplasma primario, secundario y terciario dependiendo de lo alejadas filogenéticamente que se encuentren de la berenjena y la dificultad para realizar hibridaciones (Plazas et al., 2016b).

Se han encontrado algunas especies altamente tolerantes a sequía como *S. insanum* (germoplasma primario), *S. macrocarpon* L., *S. dasyphyllum* (germoplasma secundario) y *S. eleagnifolium* (germoplasma terciario) (Daunay et al., 1991; Fita et al., 2015b; Kouassi et al., 2016; Syfert et al., 2016). Especies tolerantes al frío se han descrito en *S. grandiflorum*, *S. mammosum*, *S. khasianum* y *S. aculeatisimum* (Baksh e Iqbal, 1979; Chi y Zhuang, 2010), y con tolerancia a la salinidad en *S. linnaeanum* y *S. torvum* que se utiliza principalmente como portainjerto incluso de tomate (Daunay et al., 1991).

La utilización de especies silvestres en la mejora de berenjenas se ve obstaculizada por el hecho de que estos materiales tienen muchos caracteres desfavorables (p. ej., tamaño de fruto pequeño, amargor, presencia de alcaloides, espinas, etc.) que muchas veces son dominantes y requieren varias generaciones de retrocruzamiento para ser eliminado (Daunay et al., 1991; Smith et al., 2008; Colmenares et al., 2012; Prohens et al. al., 2013). Los procesos de mejora asistida por marcadores, combinada con fenotipado, permitiría la selección eficiente de materiales con genes deseables introgressados de especies silvestres sin rasgos desfavorables (Collard y Mackill, 2008).

6. Agradecimientos

Los autores agradecen a INIA, proyectos RTA2013-00022-C02-02 y RTA2014-00041-C02, y fondos FEDER, la financiación de una parte de sus experimentos y conocimiento generado que se refleja en este trabajo, así como a la iniciativa "Adapting Agricul-

ture to Climate Change: Collecting, Protecting and Preparing Crop Wild Relatives”, con apoyo del Gobierno de Noruega y gestionado por Global Crop Diversity Trust y Millennium Seed Bank de los Royal Botanic Gardens, Kew (UK) (<http://www.cwrdiversity.org/>). Mariola Plazas agradece al Ministerio de Economía, Industria y Competitividad la concesión de un contrato posdoctoral del programa Juan de la Cierva (FCJI-2015-24835).

7. Bibliografía

- Abdul-Baki, A.A. and Stommel, J.R. 1995. Pollen viability and fruit set of tomato genotypes under optimum and high-temperature regimes. *HortScience* 30:115-117.
- Acquadro, A., Barchi, L., Gramazio, P., Portis, E., Vilanova, S., Comino, C., Plazas, M., Prohens, J. and Lanteri, S. 2017. Coding SNPs analysis highlights genetic relationships and evolution pattern in eggplant complexes. *PLoS ONE*:0180774.
- Aktas, H., Abak, K. and Cakmak I. 2006. Genotypic variation in the response of pepper to salinity. *Sci. Hort.* 110:260-266.
- Alvino, A., Centritto, M. and De Lorenzini F. 1994. Photosynthesis response of sunlight and shade pepper (*Capsicum annum*) leaves at different positions in the canopy under two water regimes. *Aust. J. Plant Physiol.* 21:377-391.
- Baek, W., Lim, S. and Lee, S.C. 2016. Identification and functional characterization of the pepper CaDRT1 gene involved in the ABA-mediated drought stress response. *Plant Mol. Biol.* 91:149-160.
- Baksh, S. and Iqbal, M. 1979. Compatibility relationships in some non tuberous species of *Solanum*. *J. Hortic. Sci.* 54:163.
- Behboudian, M.H. 1997a. Response to eggplant to drought. I. Plant Water Balance. *Sci. Hort.* 7:303-310.
- Behboudian, M.H. 1997b. Response to eggplant to drought. II. Gas Exchange Parameters. *Sci. Hort.* 7:311-317.
- Benton, J. 2008. Tomato plant culture. In the field, greenhouse and home garden. CRC Press, Boca Raton.
- Bhatt, R.M., Laxman, R.H., Singh, T.H., Divya, M.H. and Rao, A.N. 2014. Response of brinjal genotypes to drought and flooding stress. *Vegetable Science* 41:116-124.
- Bolarín, M.C., Fernández, F.G., Cruz, V. and Cuartero, J. 1991. Salinity Tolerance in Four Wild Tomato Species using Vegetative Yield-Salinity Response Curves. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 116:286-290.

- Bojórquez-Quintal, E., Velarde-Buendía, A., Ku-González, A., Carillo-Pech, M., Ortega-Camacho, D., Echevarría-Machado, I., Pottosin, I. and Martínez-Estévez, M. 2014. Mechanisms of salt tolerance in habanero pepper plants (*Capsicum chinense* Jacq.): Proline accumulation, ions dynamics and sodium root-shoot partition and compartmentation. *Front. Plant Sci.* 5:605.
- Bulle, M., Yarra, R. and Abbagani, S. 2016. Enhanced salinity stress tolerance in transgenic chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) plants overexpressing the wheat antiporter (TaNHX2) gene. *Mol. Breed.* 36:36.
- Caro, M., Cruz, V., Cuartero, J., Estañ, M.T. and Bolarin, M.C. 1991. Salinity tolerance of normal-fruited and cherry tomato cultivars. *Plant Soil* 136:249-255.
- Chapman S.C., Chakraborty S., Dreccer, M.F. and Howden, S.M. 2012. Plant adaptation to climate change: opportunities and priorities in breeding. *Crop Pasture Sci.* 63: 251-268.
- Chaves, M.M., Flexas, J. and Pinheiro, C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* 103:551-560.
- Chen, G., Wang, H., Gai, J.Y., Zhu, Y.L., Yang Li-Fei, Liu, Q.Q., Zhang G.C. and Chen G.H. 2012. Construction and characterization of a full-length cDNA library and identification of genes involved in salinity stress in wild eggplant (*Solanum torvum* Swartz). *Hortic. Environ. Biotechnol.* 53:158-166.
- Chi, X.M. and Zhuang, Y. 2010. Exploration of introduction adaptability of Himalaya nightshade. *Yunnan J. Trad. China Med. Materia Med.* 11:36-38.
- Chiang, C.M., Chen, L.F.O., Shih, S.W. and Lin K.H. 2015. Expression of eggplant ascorbate peroxidase increases the tolerance of transgenic rice plants to flooding stress. *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 24:257-267.
- Collard, B. C. and Mackill, D. J. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363:557-572.
- Colmenares, A. P., Rojas, L. B., Mitaine-Offer, A. C., Pouységu, L., Quideau, S., Paululat, T., Usbillaga, A. and Lacaille-Dubois, M.A. 2012. *Solanum torvum*, a source of new steroidal saponins. *Planta Medica* 78 :294.
- Conesa, M.À., Galmés, J., Ochogavía, J.M., March, J., Jaume, J., Martorell, A., Francis, D.M., Medrano, H., Rose, J.K.C. and Cifre, J. 2014. The postharvest tomato fruit quality of long shelf-life Mediterranean landraces is substantially influenced by irrigation regimes. *Postharvest Biol. Technol.* 93:114-121.

- Cuartero, J., Bolarín, M.C., Asíns, M.J. and Moreno, V. 2006. Increasing salt tolerance in the tomato. *J. Exp. Bot.* 57:1045-1058.
- Daunay, M.C., Leste, r R.N. and Laterrot, H. 1991. The use of wild species for the genetic improvement of Brinjal (eggplant) (*Solanum melongena*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*). p. 389-413 En: Hawks, J.C., Lester R.N., Nee M. and Estrada, N. (eds.), *Solanaceae III, taxonomy, chemistry, evolution*, vol. 27. Royal Botanic Gardens Kew and Linnean Soc., London.
- Daunay, M.C. and Hazra, P. 2012. Eggplant, p. 257-322. En: Peter, K.V. and Hazra P. (eds.). *Handbook of vegetables*. Studium Press, Houston.
- Del Campo A. 2008. Gestión y planificación de la sequía. Impactos económicos, sociales y ambientales de la sequía. MAPAMA. Disponible en: http://www.mapama.gob.es/imagenes/en/0904712280126415_tcm11-17915.pdf.
- Delfine, S., Tognetti, R., Loreto, F. and Alvino, A. 2002. Physiological and growth responses to water stress in field-grown bell pepper (*Capsicum annum* L.). *J. Hort. Sci. Biotech.* 77:697-704.
- DeWitt, D. and Bosland, P.W. 2009. *The complete chile pepper book: A gardener's guide*. Timbre Press, Portland.
- Díaz-Pérez, J.C. and Eaton, T.E. 2015. Eggplant (*Solanum melongena* L.) plant growth and fruit yield as affected by drip irrigation rate. *HortScience*, 50:1709-1714.
- Dorais, M., Papadopoulos, A.P. and Gosselin, A. 2001. Greenhouse tomato fruit quality: the influence of environmental and cultural factors. *Hortic. Rev.* 26:239-319.
- EEA. 2017. *Climate change, impacts and vulnerability in Europe 2016. An indicator-based report No1/2017*. European Environment Agency. Disponible en: <https://www.eea.europa.eu/publications/climate-change-impacts-and-vulnerability-2016>
- Erickson, A.N. and Markhart, A.H. 2002. Flower developmental stage and organ sensitivity of bell pepper (*Capsicum annum* L.) to elevated temperature. *Plant Cell Environ.* 25:123-130.
- Estañ, M.T., Martínez-Rodríguez, M.M., Pérez-Alfocea, F., Flowers, T.J. and Bolarin, M.C. 2005. Grafting raises the salt tolerance of tomato through limiting the transport of sodium and chloride to the shoot. *J. Exp. Bot.* 56:703-712.
- FAOSTAT. 2018. *Food and agricultural commodities statistics [www Document]*. URL <http://faostat.fao.org/>



- Fellner, M. and Sawhney, V.K. 2001. Seed germination in a tomato male-sterile mutant is resistant to osmotic, salt and low-temperature stresses. *Theor. Appl. Genet.* 102:215-221.
- Fernández, M.D., Gallardo, M., Bonachela, S., Orgaz, F., Thompson, R.B. and Fereres, E. 2005. Water use and production of a greenhouse pepper crop under optimum and limited water supply. *J. Hort. Sci. Biotech.* 80:87-96.
- Fita, A., Rodríguez-Burruezo, A., Boscaiu, M., Prohens, J. and Vicente, O. 2015a. Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: A new paradigm for increasing food production. *Front. Plant Sci.* 6:978.
- Fita, A., Fioruci, F., Plazas-Ávila, M.D.L.O., Rodríguez Burruezo, A. and Prohens, J. 2015b. Drought tolerance among accessions of eggplant and related species. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca: Horticulture* 72(2):461-462.
- Flexas, J., Diaz-Espejo, A., Galmés, A., Kaldenhoff, R., Medrano, H. and Ribas-Carbo, M. 2007. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. *Plant Cell Environ.* 30:1284-1298.
- Foolad, M.R. and Lin, G.Y. 1997. Absence of a genetic relationship between salt tolerance during seed germination and vegetative growth in tomato. *Plant Breed.* 116:363-367.
- Foolad, M.R., Zhang, L.P. and Subbiah, P. 2003. Genetics of drought tolerance during seed germination in tomato: inheritance and QTL mapping. *Genome* 46:536-545.
- Foolad, M.R. 2004. Recent advances in genetics of salt tolerance in tomato. *Plant Cell. Tissue Organ Cult.* 76:101-119.
- Foolad, M. 2006. Tolerance to abiotic stresses. p. 521-591. En: Razdan, M.K. and Mattoo A.K. (eds.). *Genetic Improvement of Solanaceous Crops. Volume 2: Tomato.* Science Publishers, Enfield, EEUU.
- Foolad, M.R. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *Int. J. Plant Genomics* 1:1-52.
- Foolad, M.R. and Panthee, D.R. 2012. Marker-assisted selection in tomato breeding. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 31:93-123.
- Fowler, C., Moore, G. and Hawtin, G. 2003. *The International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture: A primer for the future of CGIAR.* International Plant Genetic Resources Institute, Roma.

- Fu, Q.S., Yang, R.C., Wang, H.S., Zhao, B., Zhou, C.L., Ren, S.X. and Guo, Y.D. 2013. Leaf morphological and ultrastructural performance of eggplant (*Solanum melongena* L.) in response to water stress. *Photosynthetica* 51:109-114.
- Galmes, J., Conesa, M.A., Ochogavia, J.M., Perdomo, J.A, Francis, D.M., Ribas-Carbo, M., Save, R., Flexas, J., Medrano, H. and Cifre, J. 2011. Physiological and morphological adaptations in relation to water use efficiency in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*. *Plant Cell Environ.* 34:245-260.
- Geisenberg, C. and Stewart, K. 1986. Field crop management. p. 511-557. En: Atherton, J.G. (eds.), *The Tomato Crop: A Scientific Basis for improvement* 1. Chapman & Hall, New York.
- Gerszberg, A. and Hnatuszko-Konka, K. 2017. Tomato tolerance to abiotic stress: a review of most often engineered target sequences. *Plant Growth Regul.* 83:175-198.
- Gil, M.A., López, C.M., Cuadra, M.E.D., Sánchez, J.A., Coca, B.M., Martínez, S.P. and Zúeco, J.C. 2004. 'Amalia': a medium-fruit-size, heat-tolerant tomato cultivar for tropical conditions. *HortScience* 39:1503-1504.
- Giuffrida, F., Cassaniti, C., Agnello, M. and Leonardi, C. 2014. Growth and ionic concentration of eggplant as influenced by rootstocks under saline conditions. *Acta Horticulturae* 1086:161-166.
- Grandillo, S., Termolino, P. and van der Knaap, E. 2013. Molecular mapping of complex traits in tomato, p. 150-227. En: Liedl, B.E., Labate, J.A., Stommel, J.R., Slade, A. and Chittaranjan, K. (eds.), *Genetics, Genomics, and Breeding of Tomato*. Science Publishers, Enfield, EEUU.
- Guo, M., Zhai, Y.F., Lu, J.P., Chai, L., Chai, W.G., Gong, Z.H. and Lu, M.H. 2014. Characterization of *CaHsp70-1*, a pepper heat-shock protein gene in response to heat stress and some regulation exogenous substances in *Capsicum annuum* L. *Int. J. Mol. Sci.* 15:19741-19759.
- Hanna, H.Y., Adams, A.J. and Black, L.L. 1992. LHT24 heat-tolerant tomato breeding line. *HortScience* 27:1337.
- Hannachi, S., Van Labeke, M. C. and Mehouchi, T. 2014. Application of chlorophyll fluorescence to screen eggplant (*Solanum melongena* L.) cultivars for salt tolerance. *Photosynthetica* 52:57-62.
- Hart, K., Allen, B., Keenleysid, C., Nanni, S., Maréchal, A., Paquel, K., Nesbit, M. and Ziemann, J. 2017. Research for agri committee - the consequences of climate change

- for EU agriculture. Follow-up to the COP21 - UN Paris Climate Change Conference. European Parliament, Brussels doi:10.2861/295025
- Hirakawa, H., Shirasawa, K., Miyatake, K., Nunome, T., Negoro, S., Ohyama, A., Yamaguchi, H., Sato, S., Isobe, S., Tabata, S. and Fukuoka, H. 2014. Draft genome sequence of eggplant (*Solanum melongena* L.): the representative *Solanum* species indigenous to the Old World. *DNA Research* 21:649-660.
- Hortoinfo. 2017. Almería es el mayor exportador mundial de berenjena, por delante de México y Holanda. <http://www.hortoinfo.es/index.php/5827-exp-mund-berj-050717>.
- Hwang, E.W., Kim, K.A., Park, S.C., Jeong, M.J., Byun, M.O. and Kwon, H.B. 2005. Expression profiles of hot pepper (*Capsicum annuum*) genes under cold stress conditions. *J. Biosci.* 30:657-667.
- Isbat, M., Zeba, N., Kim, S.R. and Hong, C.B. 2009. A *BAX inhibitor-1* gene in *Capsicum annuum* is induced under various abiotic stresses and endows multi-tolerance in transgenic tobacco. *J. Plant Physiol.* 166:1685-1693.
- Joo, H., Lim, C.W. and Lee, S.C. 2016. Identification and functional expression of the pepper RING type E3 ligase, CaDTR1, involved in drought stress tolerance via ABA-mediated signalling. *Scientific Reports* 6:30097.
- Kokalis-Burelle, N., Bausher, M.G. and Roskopf, E.N. 2009. Greenhouse evaluation of capsicum rootstocks for management of *Meloidogyne incognita* on grafted bell-pepper. *Nematopica* 39:121-132.
- Kouassi, B., Prohens, J., Gramazio, P., Kouassi, A.B., Vilanova, S., Galán-Ávila, A., Heranz, F.J., Kouassi, A., Seguí-Simarro, J.M. and Plazas, M. 2016. Development of backcross generations and new interspecific hybrid combinations for introgression breeding in eggplant (*Solanum melongena*). *Sci. Hort.* 213:199-207.
- Kovats, R.S., Valentini, R., Bouwer, L.M., Georgopoulou, E., Jacob, D., Martin, E., Rounsevell, M. and Soussana, J.F. 2014. Europe. p. 1267-1326. En: Barros, V.R., Field, C.B., Dokken, D.J., Mastrandrea, M.D., Mach, K.J., Bilir, T.E., Chatterjee, M., Ebi, K. L., Estrada, Y.O., Genova, R.C., Girma, B., Kissel, E.S., Levy, A.N., MacCracken, S., Mastrandrea, P.R. and White, L.L. (eds.), *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel of Climate Change*, Cambridge University Press, Cambridge.

- Kraft, K.H., Luna-Ruiz, J.J. and Gepts, P. 2013. A new collection of wild populations of *Capsicum* in Mexico and the southern United States. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 60:225-232.
- Labate, J.A., Grandillo, S., Fulton, T., Muños, S., Caicedo, A.L., Peralta, I., Ji, Y., Chetelat, R.T., Scott, J.W., Gonzalo, M.J., Francis, D., Yang, W., van der Knaap, E., Baldo, A.M., Smith-White, B., Mueller, L.A., Prince, J.P., Blanchard, N.E., Storey, D.B., Stevens, M.R., Robbins, M.D., Wang, J.-F., Liedl, B.E., O'Connell, M.A., Stommel, J.R., Aoki, K., Iijima, Y., Slade, A.J., Hurst, S.R., Loeffler, D., Steine, M.N., Vafeados, D., McGuire, C., Freeman, C., Amen, A., Goodstal, J., Facciotti, D., Van Eck, J. and Causse, M. 2007. Tomato, p. 1-125. En: Kole, C. (ed.), *Vegetables*. Springer Berlin.
- Leal-Fernández, C., Godoy-Hernández, H., Núñez-Colín, C.A., Anaya-López, J.L., Villalobos-Reyes, S. and Castellanos, J.Z. 2013. Morphological response and fruit yield of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) grafted onto different commercial rootstock. *Biol. Agric. Hortic.* 29:1-11.
- Lerma, M.D., Raigón, M.D., Fita, A., Moreno, E., García-Martínez, M.D., Prohens, J., Pennella, C., Calatayud, A., Nebauer, S.G., San Bautista, A., López-Galarza, S., Camacho, F., Tello, J.C. and Rodríguez-Burruezo, A. 2012. Effect of moderately saline water deficit on the content of antioxidants in paprika (*Capsicum annuum*) at different ripening stages. 2nd Symposium on Horticulture in Europe (Angers, Francia, 1-5 Julio). Book of abstracts: 210-211.
- Li, Z.L., Sun, B.J., Luo, S.B. and Li, Z.X. 2009. Morphological response to heat stress and screening of assessment indexes for heat tolerance in eggplant (*Solanum melongena* L.) in South China. *Journal of Plant Genetic Resources* 2:013.
- Li, Y.Y., Li, Z.L., Li, Z.X., Luo, S.B. and Sun, B.J. 2011. Effects of heat stress on gene expression in eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings. *Afr. J. Biotechnol.* 10(79):18078-18084.
- Li, J., Jiang, M.M., Ren, L., Liu, Y. and Chen H.Y. 2016. Identification and characterization of *CBL* and *CIPK* gene families in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Molecular Genetics and Genomics* 291:1769-1781.
- Liedl, B.E., Labate, J.A., Stommel, J.R., Slade, A. and Chittaranjan, K. 2013. Genetics, genomics and breeding of tomato. En: Chittaranjan, K. (ed.), *Genetics, Genomics and Breeding of Crop Plants*. CRC Press, Boca Raton, EEUU.
- Lin, K.H., Lin, C.H., Chan, M.T. and Lo, H.F. 2010. Identification of flooding-response genes in eggplant roots by suppression subtractive hybridization. *Plant Molecular Biology Reporter* 28:212-221.

- Lucier, G. and Jerardo, A. 2006. The vegetables and melons outlook. Electronic outlook report from the economic research service (USDA VGS-318). [www Document]. URL <http://www.ers.usda.gov/publications/vgs/2006/12dec/vgs318.pdf>
- Manaday, S.J., Canama, A.O., Ocampo, E.T.M., Maghirang, R. and Delfin, E. 2013. Assessment of the drought response of genetically diverse eggplant genotypes. *Philippine Journal of Crop Science*.
- Manzur, J.P., Fita, A., Prohens, J. and Rodríguez-Burruezo, A. 2015. Successful wide hybridization and introgression breeding in a diverse set of common peppers (*Cap-sicum annuum*) using different cultivated ají (*C. baccatum*) accessions as donor parents. *PlosONE* 10(12):e0144142.
- MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2017. <http://www.mapama.gob.es/es/> (Consultado 20 de diciembre de 2017).
- Matas, A.J., Gapper, N.E., Chung, M.-Y., Giovannoni, J.J. and Rose, J.K.C. 2009. Biology and genetic engineering of fruit maturation for enhanced quality and shelf-life. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20:197-203.
- Maurya, V.K., Srinivasan, R., Nalini, E., Ramesh, N. and Gothandam, K.M. 2015. Analysis of stress responsive genes in *Capsicum* for salinity responses. *Annual Research & Review in Biology* 6: 66-78.
- Mibei, E.K., Ambuko, J., Giovannoni, J.J., Onyango, A.N. and Owino, W.O. 2018. Metabolomic analyses to evaluate the effect of drought stress on selected African Egg-plant accessions. *J. Sci. Food Agric.* (in press): doi 10.1002/jsfa.8577
- Monforte, A.J., Asíns, M.J. and Carbonell, E.A., 1996. Salt tolerance in *Lycopersicon* species. IV. Efficiency of marker-assisted selection for salt tolerance improvement. *Theor. Appl. Genet.* 93:765-772.
- Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.* 167:645-663.
- Mustafa, Z., Ayyub, C. M., Amjad, M. and Ahmad, R. 2017. Assesment of biochemical and ionic attributes against salt stress in eggplant (*Solanum melongena* L.) genotypes. *J. Anim. Plant Sci.* 27: 503-509
- Nuez, F., Gil-Ortega, R. and Costa, J. 2003. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. *MundiPrensa*, Madrid.
- Olesen, J.E. and Bindi, M. 2002. Consequences of climate change for European agricultural productivity, land use and policy. *Eur. J. Agron.* 16:239-262.

- Ou, L.J., Dai, X.Z., Zhang, Z.Q. and Zou, X.X. 2011. Responses of pepper to waterlogging stress. *Photosynthetica* 49:339.
- Pagamas, P. and Nawata, E. 2008. Sensitive stages of fruit and seed development of chili pepper (*Capsicum annuum* L. var. Shishito) exposed to high-temperature stress. *Sci. Hort.* 117:21-25.
- Paupière, M.J., van Haperen, P., Rieu, I., Visser, R.G.F., Tikunov, Y.M. and Bovy, A.G. 2017. Screening for pollen tolerance to high temperatures in tomato. *Euphytica* 213: 130.
- Peet, M.M. and Bartholemew, M. 1996. Effect of night temperature on pollen characteristics, growth, and fruit set in tomato. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 121:514-519.
- Peet, M.M. 2005. Irrigation and fertilization. p. 171-198. En: Heuvelink, E. (ed.), Tomatoes. CABI Publishing, Cambridge.
- Penella, C., Nebauer, S.G., López-Galarza, S., San Bautista, A., Rodríguez-Burruezo, A. and Calatayud, A. 2014. Evaluation of some pepper genotypes as rootstocks in water stress conditions. *Hortic. Sci.* 41:192-200.
- Penella, C., Nebauer, S.G., Quiñones, A., San Bautista, A., López-Galarza, S. and Calatayud, A. 2015. Some rootstocks improve pepper tolerance to mild salinity through ionic regulation. *Plant Sci.* 230:12-22.
- Penella, C., Landi, M., Guidi, L., Nebauer, S.G., Pellegrini, E., San Bautista, A., Remorini, D., Nali, C., López-Galarza, S. and Calatayud A. 2016. Salt-tolerant rootstock increases yield of pepper under salinity through maintenance of photosynthetic performance and sinks strength. *J. Plant Physiol.* 193:1-11.
- Pereira-Días, L., Gil Vilar, D., Rodríguez Burruezo, A., López Galarza, S.V., San Bautista Primo, A., Castell Zeising, V. and Fita, A. 2016. Root morphology and phosphorus starvation adaptation in pepper. p. 436-437. Proceedings of the XVIth EUCARPIA Capsicum and Eggplant Working Group Meeting. Diamond congress Ltd, Budapest.
- Pineda, B., García-Abellán, J.O., Antón, T., Pérez, F., Moyano, E., García Sogo, B. Campos, J.F., Angosto, T., Morales, B., Capel, J., Moreno, V., Lozano, R., Bolarín, M.C. and Atarés, A. 2012. Tomato: genomic approaches for salt and drought stress tolerance, p. 1085-1120. En: Tuteja, N., Singh, S., Tiburcio, A.F. and Tuteja, R. (eds.), Improving Crop Resistance to Abiotic Stress. Wiley-Verlag, Weinheim.
- Plazas, M., Rahma, A.F., Rodríguez-Burruezo, A., Prohens, J. and Fita, A. 2016a. Screening for drought tolerance in eggplant relatives and interspecific hybrids. p. 306-308. Proceedings of the XVIth EUCARPIA Capsicum and Eggplant Working Group Meeting. Diamond congress Ltd, Budapest.



- Plazas, M., Vilanova, S., Gramazio, P., Rodríguez-Burruezo, A., Fita, A., Herraiz, F.J., Rani, R., Fonseka, R., Niran, L., Fonseka, H.H., Kouassi, B., Kouassi, A., Kouassi, A. and Prohens, J. 2016b. Interspecific hybridization between eggplant and wild relatives from different gene pools. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 141:34-44.
- Prabhavathi V.R. and Rajam M.V. 2007. Polyamine accumulation in transgenic eggplant enhances tolerance to multiple abiotic stresses and fungal resistance. *Plant Biotechnol. J.* 24:273-282.
- Prohens J. and Rodríguez-Burruezo, A. 2010. Advances in genetics and breeding of *Capsicum* and eggplant (Proceedings of the XIVth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of *Capsicum* & Eggplant. Universitat Politècnica de Valencia, Valencia.
- Prohens, J., Whitaker, B.D., Plazas, M., Vilanova, S., Hurtado, M., Blasco, M., Gramazio, P. and Stommel, J.R. 2013. Genetic diversity in morphological characters and phenolic acids content resulting from an interspecific cross between eggplant, *Solanum melongena*, and its wild ancestor (*S. incanum*). *Annals of Applied Biology* 162:242-257.
- Qin, C., Yu, C., Shen, Y., Fang, X., Chen, L., Min, J., Jiaowen Cheng, J., Zhao, S., Xu, M., Luo, Y., Yang, Y., Wu, Z., Mao, L., Wu, H., Ling-Hu, C., Zhou, H., Lin, H., González-Morales, S., Trejo-Saavedra, D.L., Tian, H., Tang, X., Zhao, M., Huang, Z., Zhou, A., Yao, X., Cui, J., Li, W., Chen, Z., Feng, Y., Niu, Y., Bi, S., Yang, X., Li, W., Cai, H., Luo, X., Montes-Hernández, S., Leyva-González, M.A., Zhiqiang Xiong, Z., He, X., Bai, L., Tan, S., Tang, X., Liu, D., Liu, J., Zhang, S., Chen, M., Zhang, L., Zhang, L., Zhang, Y., Liao, W., Zhang, Y., Wang, M., Lv, X., Wen, B., Liu, H., Luan, H., Zhang, Y., Yang, S., Wang, X., Xud, J., Li, X., Li, S., Wang, J., Alain Palloix, A., Bosland, P.W., Li, Y., Kroghe, A., Rivera-Bustamante, R.F., Herrera-Estrella, L., Yin, Y., Yu, J., Hu, K. and Zhang, Z. 2014. Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into *Capsicum* domestication and specialization. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 111:5135-5140.
- Richards, R.A. 1996. Defining selection criteria to improve yield under drought. *Plant Growth Regul.* 20:157-166.
- Rivard, C.L. and Louws, F.J. 2008. Grafting to manage soilborne diseases in heirloom tomato production. *Hortscience* 43:2104-2111.
- Robertson, L.D. and Labate, J.A. 2007. Genetic resources of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and wild relatives, p. 25-75. En: Razdan, M.K. and Mattoo, A.K. (eds.), Genetic improvement of solanaceous crops. Volume 2: Tomato. Science Publishers, New Hampshire.

- Rodríguez-Burruezo, A., Pereira-Dias, L. and Fita, A. 2016. Pimiento. p: 405-426. En: Ruiz de Galarreta, J.I., Prohens, J. and Tierno, R. (eds.), Las variedades locales en la mejora genética de plantas. Serv. Central Publ. Gobierno Vasco, Vitoria.
- Rudich, J. and Luchinsky, U. 1986. Water economy, p. 335-361. En: Atherton, J.G. (ed.), The tomato crop, a scientific basis for improvement. Chapman & Hall, London.
- Ruihong, W.M.G.Z.H. and Shifu, H.J.R. 2008. A new heat-resistant and high-quality eggplant F1 hybrid-‘Heishuai’. Journal of Changjiang Vegetables 8:010.
- Sagare B.B. and Mohanty I.C. 2012. Development of moisture stress tolerant brinjal cv. Utkal Anushree (*Solanum melongena* L.) using *Agrobacterium* mediated gene transformation. J Agric. Sci. 4 b(8):141–148
- Sakamoto, Y., Watanabe, S., Nakashima, T. and Okano, K. 1999. Effects of salinity at two ripening stages on the fruit quality of single-truss tomato grown in hydroponics. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 74:690-693.
- Schwarz, D., Roupheal, Y., Colla, G. and Venema, J.H. 2010. Grafting as a tool to improve tolerance of vegetables to abiotic stresses: Thermal stress, water stress and organic pollutants. Sci. Hortic. 127:162-171.
- Scott, J.W., Volin, R.B., Bryan, H.H. and Olson, S.M. 1986. Use of hybrids to develop heat tolerant tomato cultivars. Proc. Fla. State Hortic. Soc. 99:311–314.
- Seong, E.S. and Wang, M.H. 2008. A novel *CaAbs1* gene induced by early-abiotic stresses in pepper. BMB Reports 41:86-91.
- Smith, S. W., Giesbrecht, E., Thompson, M., Nelson, L. S., Hoffman, R. S. 2008. Solanaceous steroidal glycoalkaloids and poisoning by *Solanum torvum*, the normally edible susumber berry. Toxicon, 52(6):667-676.
- Stommel, J.R. and Albrecht, E. 2012. Genetics. p. 29-56. En: Russo, V.M. (ed.), Peppers: botany, production and uses. CABI, Croydon, UK.
- Sziderics, A.H., Oufir, M., Trognitz, F., Kopecky, D., Matusíková, I., Hausman, J.F. and Wilhelm, E. 2010. Organ-specific defence strategies of pepper (*Capsicum annuum* L.) during early phase of water deficit. Plant Cell Rep. 29:295-305.
- Syfert, M.M., Castañeda-Álvarez, N.P., Houry, C.K., Särkinen, T., Sosa, C.C., Achicanoy, H.A., Bernau, V., Prohens, J., Daunay, M.C. and Knapp, S. 2016. Crop wild relatives of the brinjal eggplant (*Solanum melongena*): Poorly represented in genbanks and many species at risk of extinction. Amer. J. Bot. 103:635-651.

- Ünlükara, A., Kurunç, A., Kesmez, G.D., Yurtseven, E. and Suarez, D.L. 2010. Effects of salinity on eggplant (*Solanum melongena* L.) growth and evapotranspiration. *Irrig. Drain.* 59:20314.
- Usman, M.G., Rafii, M.Y., Ismail, M.R., Malek, M.A. and Latif, M.A. 2014. Heritability and genetic advance among chili pepper genotypes for heat tolerance and morpho-physiological characteristics. *Sci. World J.* 2014:308042.
- Van Ieperen, W. 1996. Effects of different day and night salinity levels on vegetative growth, yield and quality of tomato. *J. Hortic. Sci.* 71:99-111.
- Vidoz, M.L., Mignolli, F., Aispuru, H.T. and Mroginski, L.A. 2016. Rapid formation of adventitious roots and partial ethylene sensitivity result in faster adaptation to flooding in the aerial roots (aer) mutant of tomato. *Sci. Hortic.* 201:130-139.
- Villand, J., Skroch, P.W., Lai, T., Hanson, P., Kuo, C.G. and Nienhuis, J. 1998. Genetic variation among tomato accessions from primary and secondary centers of diversity. *Crop Sci.* 38:1339-1347.
- Wang, S., Yang, R., Cheng, J. and Zhao, J. 2007. Effect of rootstocks on the tolerance to high temperature of eggplants under solar greenhouse during summer season. *Acta Hort.* 761:357-360.
- Wang, L., Chen, L., Li, R., Zhao, R., Yang, M., Sheng, J. and Shen, L. 2017a. Reduced drought tolerance by CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis in tomato plants. *J. Agric. Food Chem.* 65:8674-8682.
- Wang, H., Niu, H., Zhai, Y. and Lu, M. 2017b. Characterization of *BiP* genes from pepper (*Capsicum annuum* L.) and the role of *CaBiP1* in response to endoplasmic reticulum and multiple abiotic stresses. *Front. Plant Sci.* 8:1122.
- Wu, X., Yao, X., Chen, J., Zhu, Z., Zhang, H. and Zha, D. 2014. Brassinosteroids protect photosynthesis and antioxidant system of eggplant seedlings from high-temperature stress. *Acta Physiol. Plant.* 36:251-261.
- Yang, X., Cheng, Y.F., Deng, C., Ma, Y., Wang, Z.W., Chen, X.H. and Xue, L.B. 2014. Comparative transcriptome analysis of eggplant (*Solanum melongena* L.) and turkey berry (*Solanum torvum* Sw.): phylogenomics and disease resistance analysis. *BMC Genomics* 15:412.
- Yang, X., Liu, F., Zhang, Y., Wang, L. and Cheng, Y.F. 2017. Cold-responsive miRNAs and their target genes in the wild eggplant species *Solanum aculeatissimum*. *BMC genomics* 18(1):1000.

- Zeba, N., Ashrafuzzaman, M. and Hong, C.B. 2006. Molecular characterization of the *Capsicum annuum* RING Zinc finger protein 1 (*Ca:RZFP*) gene induced by abiotic stresses. *J. Plant Biol.* 49:484-490.
- Zhang, H.X. and Blumwald, E. 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nat. Biotechnol.* 19:765.
- Zhang, Y., He, Y. and Zhu, Z. 2009. Studies on seedling heat tolerance of different eggplant (*Solanum melongena* L.) varieties. *China Vegetables* 24:30-35.
- Zhou, L., Li, J., He, Y., Liu, Y. and Chen, H. 2018. Functional characterization of *SmC-BF* genes involved in abiotic stress response in eggplant (*Solanum melongena*). *Sci. Hort.* 233:14-21.
- Zhu, W., Lu, M., Gong, Z. and Chen, R. 2011. Cloning and expression of a small heat shock protein gene *CaHSP24* from pepper under abiotic stress. *Afr. J. Biotechnol.* 10:4968-4976.
- Zhuang, Y., Zhou, X.H. and Liu, J. 2014. Conserved miRNAs and their response to salt stress in wild eggplant *Solanum linnaeanum* roots. *Intl. J Mol. Sci.* 15:839-849.



Capítulo IX.

CUCURBITÁCEAS

Belén Picó Sirvent^{1*} y María Luisa Góme-Guillamón²

- 1 Instituto Universitario de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV). Universitat Politècnica de València (UPV).
- 2 Dpto. Mejora Genética y Biotecnología, IHSM-La Mayora, UMA-CSIC.

*Coordinador: mpicosi@btc.upv.es

CONTENIDO:

1. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro.
2. Objetivos de mejora.
 - 2.1. Desarrollo de variedades resistentes a estreses hídricos, térmicos y/o salinos del suelo
 - 2.2. Desarrollo de variedades resistentes a altas temperaturas
 - 2.3. Desarrollo de variedades resistentes a enfermedades y plagas, y a nuevos patógenos emergentes.
3. Biotecnología aplicada a la mejora genética.
4. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética.
5. Agradecimientos
6. Bibliografía



Capítulo IX.

CUCURBITÁCEAS

1. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro.

El cambio del clima a nivel global causa una grave preocupación a la comunidad científica ya que la producción de cultivos se verá seriamente afectada al cambiar radicalmente los regímenes de temperatura y precipitaciones y la concentración de CO₂ atmosférico. Aunque las causas del mismo están todavía en discusión, ya se observan sus consecuencias, tanto en poblaciones naturales como en sistemas agrícolas, lo que amenaza la seguridad alimentaria (Altieri y Nicholls, 2013).

Los efectos del cambio climático sobre la agricultura afectan de forma diferencial a unas regiones u otras pero los más dramáticos se prevén en zonas con regímenes de precipitación de semiáridos a húmedos, que se ven afectados fundamentalmente por mayor frecuencia de lluvias intensas con inundaciones, y periodos de sequía y temperaturas elevadas más extensos y severos (Cline, 2007). A esto hay que añadir el aumento del nivel del mar que puede también reducir las áreas de cultivo, salinizando terrenos y acuíferos, si bien esta salinización se produce también de forma importante por la evatranspiración causada por las altas temperaturas y periodos de sequía.

En cualquiera de los casos, se incrementan las situaciones de estrés abiótico relacionado con condiciones ambientales extremas, especialmente en lo que se refiere a la disponibilidad de agua y a la temperatura, que afectan a la producción por su efecto sobre la fotosíntesis, la respiración, la floración y cuajado de frutos, y otros procesos biológicos. Estos cambios en las condiciones ambientales afectan también a la ocurrencia y epidemiología de las enfermedades, ya que influirán en el desarrollo y supervivencia del patógeno y modificarán la susceptibilidad de la planta huésped. Por supuesto, estos cambios serán diferentes en función del patosistema y de la región geográfica y podrán ser especialmente importantes en la severidad de las enfermedades, en su distribución geográfica, en su impacto económico en un área determinada y en la variedad de las enfermedades que pueden afectar a cada cultivo, propiciando la epidemia de patógenos que no eran un problema hasta el momento en determinadas áreas o cultivos (Elad y Pertot, 2014). La interacción entre los dos tipos de estrés, abiótico y biótico, también se verá afectada, siendo posiblemente la ocurrencia de com-

binaciones de distintos tipos de estrés lo que mayor efecto tenga sobre los cultivos (Pandey et al., 2017).

El cambio climático afecta de forma diferencial a distintas familias de cultivos, en función de su distribución geográfica y de sus características. La familia Cucurbitaceae es una de las más amplias, con más de 100 géneros y casi 1000 especies. Incluye mayoritariamente especies herbáceas, que se desarrollan en una amplia variedad de sistemas agroclimáticos que van desde regiones templadas, subtropicales y tropicales, a desiertos áridos (Robinson y Decker-Walters 1997).

Entre los cultivos de mayor importancia, destacan el pepino (*Cucumis sativus* L.), el melón (*Cucumis melo* L.), la sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) y las calabazas y calabacines, pertenecientes mayoritariamente a 3 especies cultivadas del género *Cucurbita* (*Cucurbita pepo* L., *Cucurbita maxima* Duch. y *Cucurbita moschata* Duch.). Además de los principales cultivos, en distintas regiones del mundo se cultivan cucurbitáceas menores, tanto otras especies pertenecientes a los géneros anteriores (*Cucumis anguria* L., *Cucumis metuliferus* E. Mey, *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad., *Cucurbita ficifolia* Bouche, *Cucurbita argyrosperma* Huber) como especies de otros géneros (*Sechium*, *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*, *Trichosanthes*, *Coccinea* etc.) con objetivos alimenticios, ornamentales o industriales.

Las especies de esta familia se consumen principalmente por sus frutos, recolectados inmaduros o maduros, esenciales en la dieta diaria en todo el mundo. También se aprovechan sus semillas como fuente de proteínas, carbohidratos y aceite. Algunas de las cucurbitáceas descritas, como por ejemplo el pepino y el melón, son las hortalizas más ampliamente cultivadas a escala mundial, después del tomate y la cebolla (FAOSTAT, 2017). Los principales países productores de cucurbitáceas se encuentran en Asia (China, Irán, Rusia, Turquía, India), África (Egipto y Camerún) y América (Brasil, EEUU y Cuba), destacando en Europa la producción española de melón y la española e italiana de calabacín. Aunque en los principales países productores se llevan a cabo cultivos intensivos, el cultivo de las cucurbitáceas está distribuido en muchos países del mundo en pequeñas explotaciones, muchas veces con sistemas de cultivo tradicional de bajos inputs, para autoconsumo o venta en mercados locales.

Los principales cultivos se originaron en distintas regiones, lo que les confiere características diferenciales de adaptación y respuesta al medio (Schaefer et al., 2009). El género *Cucumis* es de origen asiático. El pepino se originó en la India, probablemente en la zona oriental de la cordillera del Himalaya. Es una especie de clima templado, soportando hasta un máximo de 32° para tener un desarrollo normal. También el melón



pudo originarse en la India, aunque probablemente sufrió varios procesos de domesticación independientes que dieron lugar a los cultivares orientales y a los occidentales, con distintas características (Sebastian et al., 2010). Su crecimiento óptimo se produce entre los 29 y los 35°C, pudiendo tolerar temperaturas superiores a los 40°C. La sandía pertenece al género xerofítico *Citrullus*, que se desarrolla fundamentalmente en las regiones tropicales de Africa, por lo que necesita altas temperaturas y luminosidad para la floración y el cuajado. El género *Cucurbita* es americano y las diferentes especies se domesticaron en distintas regiones, desde el sur de norteamérica hasta el centro de sudamérica, encontrándose en las mismas una amplia gama de adaptaciones a altitudes y latitudes variadas (especies xerofíticas y mesofíticas).

A pesar de sus diferencias, estos cultivos tienen en común algunas características que pueden verse afectadas por el cambio global. Las plantas tienen una estructura similar, de desarrollo rastrero y con zarcillos, y producen frutos carnosos. Suelen ser sensibles a las temperaturas bajas y a las heladas, lo que limita su rango de distribución geográfica y las áreas de cultivo. Son bastante susceptibles a estrés de suelo y, dependiendo de la especie y variedades dentro de la misma y del estado fenológico de la planta, toleran mejor o peor la sequía. Así, la sandía puede tener un desarrollo vegetativo adecuado en condiciones de estrés por sequía, pero necesita tener una adecuada disponibilidad de agua para germinar y para el cuajado y maduración de los frutos (Chambers et al., 2015). Presentan un sistema similar de determinación sexual mayoritariamente monoico o dioico (sólo algunas especies son hermafroditas). Las especies que han alcanzado importancia económica son todas monoicas o con sistemas variantes a partir de la monoecia, como la andromonoecia, ginoecia etc., con una primera fase de floración masculina, cuya duración e intensidad puede verse afectada por la luz y la temperatura. En algunas variedades de algunas especies estos dos factores ambientales pueden demorar también el inicio de la floración femenina. La polinización es entomófila, por lo que estas especies son muy dependientes de las poblaciones de insectos polinizadores, de forma que la disminución de las mismas por factores climáticos puede influir de forma importante en la producción.

Aparte de los efectos directos del estrés abiótico y biótico sobre los cultivos actuales de cucurbitáceas, se espera un efecto sobre su rango de distribución, tanto en las poblaciones naturales de las especies silvestres relacionadas con los cultivos, como en los sistemas agrícolas. Aunque tradicionalmente son cultivadas en zonas tropicales y templadas cálidas, puede esperarse su desplazamiento hacia latitudes más altas, y dificultarse su explotación en bajas latitudes. Esto podría suponer un problema socioeconómico, no sólo para los cultivos intensivos de elevados insumos, sino para la

agricultura de subsistencia llevada a cabo en países pobres, en los que la población local puede depender de estos cultivos. *A priori* podría considerarse que la agricultura de subsistencia sería la más afectada por estos cambios, pero es también la más preparada para subsistir en condiciones extremas.

2. Objetivos de mejora

La mejora de las cucurbitáceas ha tenido diferentes objetivos, algunos comunes a todas o algunas especies y otros específicos de cultivo. Los principales objetivos y logros de mejora se describieron en Staub et al. (2008) para pepino, Pitrat (2008) para melón, Wehner (2008) para sandía, y Ferriol y Picó (2008) y Paris (2008) para calabazas y calabacines. En cuanto a caracteres vegetativos, se puede destacar el aprovechamiento de la mutación que conduce a un crecimiento arbustivo de la planta (*bush habit*), que acorta los entrenudos y engrosa los tallos, y que ha sido esencial para incrementar la producción en calabacín y algunas calabazas. Mediante esta mutación se ha reducido el tamaño de las plantas, lo que ha permitido el incremento en la densidad de plantación, acelerando la floración e incrementando el ratio de floración femenina. Mutaciones similares se han descrito en sandía o pepino (genes *dwarf*) o en melón (genes *si*), pero con menor aplicación (Li et al., 2016). Por otro lado, la selección de plantas sin espinas en partes vegetativas o frutos sin espinas o con espinas suaves, ha sido esencial para facilitar las recolecciones y mejorar a calidad de los frutos de calabacín y pepino (Guo et al., 2018). En cuanto a la floración, se ha llevado a cabo una intensa selección de tipos (Rodríguez-Granados et al., 2017). Los principales cultivares de melón son monoicos o andromonoicos, orientándose la selección a incrementar la precocidad e intensidad de la floración femenina. En pepino, fundamentalmente monoico, se han seleccionado tipos ginoicos, que resultan en variedades de producción temprana y concentrada, adaptada a la recolección mecánica y que, combinadas con partenocarpia, no requieren polinización. Los tipos silvestres y variedades antiguas de sandía son andromonoicas, habiéndose seleccionado nuevas variedades monoicas. Las especies del género *Cucurbita* son monoicas, y la mejora se ha orientado a disminuir la duración de la fase masculina inicial, incrementando la tendencia femenina de la planta. No siempre ha sido de mayor interés incrementar la floración femenina, sino que, en relación a las variedades triploides sin semillas de sandía, se ha priorizado la floración masculina en las variedades empleadas como polinizadores. En cuanto al tipo de frutos, la mejora realizada hasta el momento en cucurbitáceas ha permitido la selección de frutos sin cucurbitacinas. Se ha diversificado enormemente en algunas de las es-



pecies el tamaño, la forma, el color de la piel y de la pulpa, y, más recientemente, se ha trabajado en la mejora de la calidad organoléptica y nutricional de los frutos (Gru-met y Cole, 2017; Gur et al., 2017). Dado que las enfermedades, fundamentalmente de etiología fúngica y viral, han constituido siempre el factor limitante para su cultivo, la introducción de resistencias ha sido uno de los principales objetivos en la mejora en cucurbitáceas. En algunas especies, la variabilidad para la resistencia a algunas de las enfermedades más importantes es muy escasa, por lo que, en los últimos años, la superación de los crecientes problemas de suelo se ha conseguido, en parte, mediante el empleo del injerto sobre patrones tolerantes a estrés biótico y abiótico (Picó et al., 2017). El control genético de muchos de los caracteres descritos y empleados hasta la fecha en la mejora de cucurbitáceas se ha estudiado en las últimas décadas, publicándose unas listas de genes actualizadas que resumen gran parte del conocimiento generado (disponibles en la página del Cucurbit Genetics Cooperative (<http://cuke.hort.ncsu.edu/cgc/cgcgenes/genelists.html>)).

La mejora actual de las cucurbitáceas en relación con el cambio climático se orienta a desarrollar cultivares más adaptados a condiciones ambientales variables y de ellas, la disponibilidad de agua se define como el factor más importante, no sólo para esta familia sino para la agricultura en general (Mou, 2011). Para minimizar los efectos del estrés hídrico habrá que centrarse, entre otros aspectos, en la mejora del sistema radicular, directamente o mediante la mejora y uso de nuevos portainjertos. Por otra parte, hay que tener en cuenta el estrés térmico, las altas temperaturas, por lo que habrá que trabajar en disminuir los efectos que el mismo puede tener sobre la fisiología de la planta y, específicamente, sobre la floración. Por último, se hace necesario continuar con la introducción de resistencia a enfermedades, teniendo en cuenta la aparición de nuevos problemas con patógenos, aislados y biotipos de importancia creciente, que eran hasta ahora menores o poco problemáticos en determinadas latitudes.

2.1. DESARROLLO DE VARIEDADES RESISTENTES A ESTRESSES HÍDRICOS, TÉRMICOS Y/O SALINOS DEL SUELO

La distribución desigual de las precipitaciones es un efecto importante del cambio climático que, junto al incremento de las temperaturas y al mal uso de los recursos hídricos, está aumentando los periodos de sequía en zonas áridas y semiáridas. También se han incrementado las inundaciones en zonas tropicales. Para luchar contra la sequía se necesitan cultivares que mejoren la eficiencia en el uso del agua. Por el contrario, en aquellas áreas o estaciones con probabilidad de inundaciones se deben desarrollar

variedades adaptadas al suelo húmedo (Mou, 2011). Trabajar con el sistema radicular es una estrategia que puede permitir incrementar la tolerancia a estos tipos de estrés, relacionada, entre otros caracteres, con el vigor y estructura de la raíz. Sin embargo, el trabajo de mejora para la tolerancia del sistema radicular a los estreses citados es complejo, ya que es difícil caracterizar la respuesta de la raíz a los mismos. Por otro lado, y aunque se ha descrito variabilidad intraespecífica para el vigor y la estructura del sistema radicular en los distintos cultivos de cucurbitáceas (Fita et al., 2011), la mejora de estos caracteres se ve dificultada por su genética compleja. El injerto es una herramienta alternativa que puede ser de utilidad para mejorar la respuesta de las cucurbitáceas en condiciones de estrés térmico, hídrico o salino del suelo. Entre las cucurbitáceas, el sistema radicular de las calabazas del género *Cucurbita* y otros géneros, como *Luffa* o *Lagenaria*, es el más vigoroso y tolerante a estrés abiótico y biótico, por lo que se emplean de portainjertos para otros cultivos, como el melón, el pepino y la sandía (Picó et al., 2017). El pepino, por ejemplo, es bastante susceptible a las altas temperaturas, especialmente a nivel radicular y se ha demostrado que los tratamientos con glutatión, incrementan la tolerancia de la raíz a las altas temperaturas del suelo (Ding et al., 2016). Además, cuando se injerta sobre patrones de *C. ficifolia* y *Luffa* spp. se aumenta la tolerancia tanto al frío como a las altas temperaturas. También el injerto sobre *Luffa* spp., ampliamente cultivada en zonas secas, incrementa la tolerancia del pepino a la sequía (Liu et al., 2016). El calentamiento global aumenta la evapotranspiración y las necesidades de agua de los cultivos lo que lleva a la salinización del suelo en zonas áridas y semiáridas. Por otro lado, se está produciendo intrusión del agua del mar en los acuíferos de las zonas costeras, agravada por las demandas cada vez mayores de agua por parte de la población y el aumento del nivel del mar. Se necesitan también variedades que puedan resistir el estrés salino para poder mantener la producción. En 2001, el 20% de las tierras de cultivo estaban salinizadas, situación que ha ido a peor con el cambio climático (Zhu, 2001), esperándose que para el año 2050 se alcanzará el 50% (Wang et al., 2003). Algunos de los portainjertos descritos anteriormente son también adecuados para el cultivo en condiciones salinas (Picó et al., 2017), aunque la tolerancia a la sal varía mucho entre especies. Así, los patrones de *Cucurbita* spp. suelen ser más tolerantes que los de *Lagenaria* spp. En melón, la utilización como portainjerto del cruce *C. maxima* x *C. moschata* para combatir la salinidad, no parece ser una buena opción (Colla et al., 2006), siendo *C. ficifolia* la especie más tolerante del género. El injerto sobre variedades de melón tolerantes a la salinidad ha mejorado la tolerancia de variedades sensibles (Dasgan et al., 2015). El pepino es moderadamente resistente a la salinidad y en áreas semihúmedas puede tolerar el riego con agua salina

hasta 4,9dS/m, aunque con ligeras pérdidas en la producción (Wan et al., 2010). No obstante, se han realizado varios estudios, tanto en campo como *in vitro*, para conocer el comportamiento de diferentes variedades de pepino sobre diferentes patrones. Además de los patrones citados, pueden emplearse patrones pertenecientes al mismo género al que pertenece el cultivo, que minimizan los efectos sobre el desarrollo vegetativo y reproductivo de la variedad injertada y sobre la calidad del fruto. Por ejemplo, en sandía pueden emplearse patrones de *Citrullus lanatus* var *citroides* L.H Bailey, conocido como citron, o de *C. colocynthis*, procedentes de zonas desérticas africanas, que presentan raíces más vigorosas y penetrantes en el suelo y que además han mostrado resistencia a distintos patógenos (Fredes et al., 2017). La evaluación de una amplia colección de genotipos de estas especies, ha permitido la identificación de algunos que podrían ser usados como portainjertos para cultivar la sandía en condiciones de extrema sequía (Zhang et al., 2011).

2.2. DESARROLLO DE VARIEDADES RESISTENTES A ALTAS TEMPERATURAS

Como se ha comentado, uno de los factores más importantes asociados al cambio climático en las zonas de cultivo de cucurbitáceas es el incremento de las temperaturas. El estrés térmico puede causar cambios celulares y moleculares desfavorables para la planta (en la actividad enzimática, la formación de complejos proteicos, la síntesis de clorofila, fotosíntesis, respiración..). Por ello, la selección de variedades resistentes a elevadas temperaturas es un objetivo prioritario de mejora. Aunque en general las cucurbitáceas son cultivos de climas cálidos, se ha observado variabilidad para la respuesta de la planta a este carácter. Por ejemplo, en el género *Cucurbita*, la especie *C. moschata* está más adaptada a regiones tropicales y subtropicales, siendo en general más tolerante al calor, mientras que la especie *C. maxima* está más adaptada a regiones templadas (Paris, 2017). El grupo Momordica, perteneciente a la especie *C. melo*, originario de la India, se ha descrito como un recurso muy interesante en la mejora del melón para la resistencia a las altas temperaturas (Dhillon et al., 2015).

Para optimizar la selección y el uso de variedades resistentes es necesario incrementar el conocimiento del efecto de las altas temperaturas en la fisiología vegetal y los mecanismos de tolerancia al calor, determinando las enzimas y los genes inducidos y silenciados en los distintos órganos de la planta, en genotipos con distintos niveles de tolerancia (Ara et al., 2013). La respiración y la fotosíntesis pueden considerarse *a priori* los procesos fisiológicos más directamente relacionados con los incrementos de temperatura y de CO₂, aunque otros procesos de enorme importancia, como la

floración, también se ven afectados a distintos niveles (expresión sexual, formación de gametos, polinización, fecundación y desarrollo de frutos y semillas). Los estudios recientes apuntan a que las pérdidas de producción relacionadas con el cambio climático pueden estar más asociadas a alteraciones de la fase reproductiva que de la fase vegetativa de los cultivos. El incremento de temperatura en zonas cálidas aumenta los episodios de temperaturas extremas, en general negativos para los cultivos, mientras que en zonas frescas, el efecto dominante del incremento de temperaturas (frecuente al final del invierno o inicio de la primavera) puede traducirse en una extensión del ciclo de cultivo que puede incrementar la producción (Hedhly et al., 2009). Sin embargo, si ocurre una exposición intermitente a temperaturas extremas las producciones pueden ser irregulares. Este efecto es mayor en cultivos que están en el límite de su rango de distribución y son muy sensibles a episodios de cambios de temperatura.

La floración de las cucurbitáceas se ve afectada por las temperaturas a distintos niveles. Por una parte, se ve alterado el patrón de expresión sexual. Por ejemplo, en pepino y en calabaza, las bajas temperaturas resultan en un mayor grado de floración femenina (Wien, 1997), que incluso puede adelantarse a la masculina, resultando en frutos tempranos que, aunque inician su desarrollo, pueden abortar rápidamente, siendo un sumidero de fotoasimilados y una fuente de infecciones tempranas en la planta. La reducción de la floración masculina es también negativa para la producción de aquellos cultivares que se aprovechan por sus semillas. Las altas temperaturas conducen a un mayor grado de floración masculina, incrementando el ratio de flores masculinas/femeninas, reduciendo la producción al disminuir la floración femenina (Peet y Wolfe, 2000), aunque se ha descrito variabilidad para la capacidad de desarrollar flores femeninas en condiciones de altas temperaturas. El desequilibrio en el desarrollo de los dos tipos de flores puede ocasionar falta de cuajado, debido a la asincronía en la producción en los gametos. Variedades mejoradas con un cambio en el patrón de expresión sexual pueden permitir una mejor adaptación a cambios en el clima. Por ejemplo, el desarrollo de variedades con una fase vegetativa o masculina más corta, que presentan un ciclo de desarrollo más corto, puede mejorar la adaptación a heladas tempranas. Por otro lado, el incremento de temperatura puede afectar a la viabilidad del polen, a su capacidad de germinación y al desarrollo de los tubos polínicos (Johannsson y Stephenson, 1998). El polen de las cucurbitáceas suele tener una vida corta, requiriéndose que las polinizaciones se realicen en un corto periodo tras la antesis. Este periodo se amplía en condiciones de humedad y temperatura moderadas. Periodos de temperaturas elevadas pueden causar senescencia y aborto floral antes de la antesis, incrementando la pérdida de viabilidad del polen. Se ha descrito variabilidad genética a este respecto, entre y dentro de especies.



La polinización de las cucurbitáceas es entomófila. La mayoría de las flores tienen nectarios, siendo algunos especialmente fragantes, como los de *C. maxima*. El color y aroma de las flores atrae a los insectos polinizadores (*Apis*, *Bombus*, *Peponapis*). Debido al cambio climático, se está observando un desajuste entre la floración y los ciclos de los insectos polinizadores. Independientemente de que el aumento de las temperaturas está influyendo también, junto a otras causas, en las poblaciones de insectos polinizadores (Chambers et al., 2015) y en su actividad polinizadora (Rader et al., 2013), las temperaturas elevadas que adelantan la floración son un factor que puede influir en esta interacción. También otros aspectos como el exceso de nitrógeno y de CO₂ pueden modificar características químicas de la planta y alterar la atracción o la nutrición de los polinizadores (Hoover et al., 2012).

Todos los aspectos descritos, relacionados con la aparición de los dos tipos de flores, con la polinización y con la fecundación, son esenciales en especies que requieren de la fecundación para el desarrollo de frutos de calidad, por ejemplo, en melón y sandía, pero no son imprescindibles en pepino y calabacín, si se combinan con el cuajado partenocárpico de los frutos. Por ello, el desarrollo de variedades con una elevada tendencia partenocárpica resulta de mucho interés frente a las alteraciones de la floración ocasionadas por las altas y bajas temperaturas (Grumet y Cole, 2017).

Otra alternativa para mantener una floración adecuada es desplazar la producción a zonas más frescas. En el caso de las calabazas, las especies más tropicales presentan floración dependiente del fotoperiodo y no son capaces de florecer en zonas templadas, salvo en condiciones de día corto. Se ha encontrado variabilidad para este carácter, por lo que sería posible seleccionar aquellas variedades más adaptadas en cada caso (Ferriol et al., 2007). En algunas variedades de melón, la floración femenina necesita días largos, por lo que no aparecen hasta la llegada del verano, lo que las hace interesantes para su aprovechamiento en nuestras latitudes (Pitrat, 2017).

2.3. DESARROLLO DE VARIEDADES RESISTENTES A ENFERMEDADES Y PLAGAS, Y A NUEVOS PATÓGENOS EMERGENTES.

Hay evidencias de que el cambio climático puede incrementar la incidencia y severidad de algunos de los principales patógenos que afectan a las cucurbitáceas. Aunque los estudios sobre el cambio climático y enfermedades de las plantas son todavía pocos, el interés en el tema se ha incrementado en los últimos años (Ghini et al., 2011; Chakraborty, 2013). Los problemas bióticos de suelo son especialmente sensibles a la ocurrencia de estrés abiótico (sequía, salinidad, altas temperaturas). Pandey et al.

(2017) describen numerosas situaciones en la que la ocurrencia combinada de distintos tipos de estrés biótico/abiótico incrementa significativamente las pérdidas de producción en numerosos cultivos (sorgo, tomate, judía...) y convierte en amenaza patógenos inicialmente no peligrosos en determinadas regiones.

Entre los hongos aéreos de mayor incidencia en las cucurbitáceas destaca el oidio, causado por *Podosphaera xanthi*, enfermedad siempre presente en los cultivos de melón y pepino y que últimamente está afectando a la sandía, especie que hasta final del siglo pasado se comportaba como inmune a la enfermedad. La localización de fuentes de resistencia a este hongo se ha convertido en un objetivo importante de la mejora en esta especie desde hace algunos años. El aumento de los niveles de CO₂ atmosférico, junto con elevadas temperaturas pueden incrementar la severidad de las epidemias de oidio, lo que ya se ha descrito, por ejemplo, en los cultivos en calabacín (Pugliese et al., 2012). Además, los estreses abióticos pueden también alterar la eficiencia de los tratamientos, químicos o biológicos, que se llevan a cabo para el control de esta enfermedad (Gilardi et al., 2017).

De los problemas bióticos de suelo, destacan las enfermedades causadas por nematodos (*Meloidogyne* spp.) o por los hongos de los géneros *Fusarium* (fusariosis) y *Monosporascus* (colapso). Aunque existe en el mercado resistencia genética a algunos de estos hongos en algunas especies de cucurbitáceas, una alternativa muy eficaz es el empleo del injerto. Los patrones empleados en la actualidad deben llevar resistencia a estos patógenos, pero en el contexto del cambio climático es necesario evaluar su resistencia en condiciones de estrés combinado, para incrementar su utilidad real en campo. Las condiciones de sequía combinadas con altas temperaturas, cada vez más frecuentes incluso en zonas templadas, están causando el incremento del impacto y severidad de los síntomas de patógenos antes de impacto limitado en cucurbitáceas, como *Macrophomina phaseolina*. No se dispone de genes de resistencia a este patógeno en melón y sandía (los cultivos más afectados), por lo que la búsqueda de los mismos o el uso de portainjertos resistentes será esencial (Ambrosio et al., 2015).

No obstante, el mayor problema de las cucurbitáceas han sido los potyvirus y más recientemente algunos luteovirus transmitidos por pulgón. Se dispone del gen *Vat* que proporciona resistencia al pulgón *Aphis gossypii* y dificulta la transmisión de virus no persistentes y semipersistentes por el mismo. Sin embargo, en el campo existen otras especies de áfidos capaces de transmitir estos virus en cucurbitáceas y se ha descrito la aparición de nuevos biotipos de *A. gossypii* que son capaces de sobrepasar la protección otorgada por el gen *Vat*. La aparición de estos nuevos



biotipos podría estar ligada a los cambios producidos en las condiciones ambientales como consecuencia del calentamiento global. Asimismo, hay evidencia de que cuando las plantas infectadas por virus crecen en situaciones de sequía constituyen una mucho mejor fuente de inóculo para los insectos vectores, lo que puede tener consecuencias importantes en la epidemiología de estas enfermedades víricas (Munster et al., 2017). También se han seleccionado fuentes de resistencia específicas a algunos de los potyvirus, específicamente al *Virus del mosaico amarillo del calabacín* y al *Virus del mosaico de la sandía* (Zucchini Yellow Mosaic Virus, ZYMV, y Watermelon Mosaic Virus, WMV), pero los genes responsables de los mismos todavía no se han identificado (Díaz-Pendón et al., 2005; Palomares-Rius et al., 2011; Capuozzo et al., 2017). En algunas zonas y condiciones también son importantes las virosis transmitidas por mosca blanca, entre las que destacan el *Virus del enanismo amarillo de las cucurbitáceas* (Cucurbits Yellowing Stunting Disorder Virus, CYSDV) (Célix et al., 1996), cuya incidencia es muy relevante en los cultivos de pepino bajo invernadero debido al crecimiento de las poblaciones de su vector, *B. tabaci*, biotipo B, en las condiciones cada vez más críticas de los veranos a lo largo de la cuenca mediterránea. Esta especie es muy polífaga, se originó en la India y hace ya varios años se desplazó a España y resulta ser un vector muy eficiente de virus, no solo en Europa sino en las zonas desérticas de Arizona y California, donde se alcanzan temperaturas cada vez más elevadas y donde el CYSDV afecta seriamente a los cultivos de melón (McCreight et al., 2017). El calentamiento global está provocando epidemias cada vez más severas de *B. tabaci* en altas latitudes y con ello, la aparición de nuevas virosis, de las cuales, la causada por el *Virus del rizado del tomate de Nueva Delhi* (Tomato Leaf Curl New Delhi Virus, ToLCNDV) se constituye como la principal amenaza de las cucurbitáceas en Europa. Este virus se describió en 2013 en España, procedente originalmente de la India, habiéndose identificado recientemente en la mayoría de los países productores de cucurbitáceas de la Cuenca Mediterránea (Sáez et al., 2017). La mosca minadora (*Liriomyza* spp), que supone un factor limitante en el cultivo del melón en la mayor región productora de Brasil, y que amenaza con extenderse a otras regiones, es otro ejemplo de cómo está cambiando el panorama de las plagas y enfermedades a nivel mundial. Por lo tanto, y pese a que la mejora para la resistencia ha sido un objetivo claro de los últimos años, disponiéndose de genes de resistencia a los principales patógenos, es necesario en un contexto de cambio climático seguir identificando nuevas resistencias que permitan enfrentarse al incremento de la severidad y a la aparición de nuevas razas de los patógenos.

3. Biotecnología aplicada a la mejora genética

La producción de híbridos intraespecíficos en algunas especies de cucurbitáceas, utilizando genotipos silvestres, ha permitido la transferencia de algunas características genéticas, como resistencia a hongos, bacterias, virus e insectos; o tolerancia a factores ambientales, como salinidad, encharcamiento, sequía y altas y bajas temperaturas, a tipos comerciales (Dane, 1991). Sin embargo, existen muchos problemas en el cultivo de las cucurbitáceas que no han podido resolverse mediante la mejora tradicional, basada en los cruzamientos, debido a las fuertes barreras de incompatibilidad sexual existentes. Así, se han descrito muchos patógenos que afectan a la productividad en esta familia y existen caracteres de calidad de fruto, resistencia a herbicidas y androesterilidad, entre otros, para los que no se han encontrado adecuadas fuentes de variabilidad dentro de cada especie. Mediante el empleo de técnicas de cultivo *in vitro* se ha tratado de obtener híbridos interespecíficos entre diferentes *Cucumis* spp, *Citrullus* spp, y *Cucurbita* spp mediante rescate de embriones, polinización *in vitro*, hibridación somática y cultivo y fusión de protoplastos (Navratilova et al., 2011; Nimmakayala et al., 2011; Chen y Zhou 2011).

Hasta ahora, la mayor parte de la biotecnología ha estado basada en la transformación genética de melón y el pepino, ya que son las cucurbitáceas económicamente más importantes en el mundo occidental. No obstante, *C. pepo* fue el primer cultivo en el que se desarrollaron cultivares transgénicos con múltiples resistencias a virus. En las diferentes especies, la mayor parte de los trabajos se han enfocado a introducir resistencia a virus, pero la transformación genética se ha encontrado con diferentes problemas para su aplicación. En melón los trabajos se han realizado normalmente mediante el uso de la transformación mediada por *Agrobacterium* en cotiledón y explantes *vía* organogénesis (Guis et al., 1998). Aunque el protocolo es simple, no resulta fácilmente reproducible, existiendo además una fuerte dependencia genotípica en la capacidad para la regeneración de las células transformadas (Gaba et al., 1996). Hay además una alta producción de plantas tetraploides así como una baja eficiencia en la transformación, problemas que se están solucionando con nuevos protocolos. A pesar de las dificultades, (Tricoli et al., 2002) describieron transformantes de melón para resistencia a virus que fueron evaluados en campo. La primera transformación en pepino se realizó *vía* embriogénesis en (Trulson et al., 1986), a partir de cotiledones. También se ha podido transformar *vía* organogénesis (Saramento et al., 1992). En el caso de la sandía, hay pocos trabajos relativos a su transformación, *vía* organogénesis directa a partir de explantes de cotiledón o peciolo (Ellul et al., 2003) mediante *Agrobacterium*.



Recientemente, se han descrito protocolos para la regeneración de sandía *vía* embriogénesis somática (Vinoth y Ravindhran, 2016). También se han transformado otras especies de *Citrullus* (Dabauza et al., 1997). Todas estas referencias están encaminadas a la obtención de plantas resistentes a virus, principalmente CMV, ZYMV, PRSV y WMV. Los mecanismos más frecuentemente utilizados han sido la utilización de la proteína de la cápsida del virus (Gaba et al., 2004) en melón, pepino y calabaza, el silenciamiento génico postranscripcional en calabaza, la expresión del gen de la proteína de la cápsida en antisentido y ribozimas en melón, y la resistencia heteróloga en calabaza. De cara al futuro, es esperable un importante desarrollo de plantas transgénicas con resistencia a geminivirus y crinivirus, ya que los virus de estas familias causan cada vez más pérdidas debido a la notable expansión de las poblaciones de mosca blanca, principalmente del biotipo B de *B. tabaci*. Para la mejora frente a estreses abióticos a través de las técnicas de biología molecular existen pocos trabajos. En melón y sandía transformados, la expresión del gen HAL1 de *Saccharomyces cerevisiae* aumenta la tolerancia a la sal (Bordás et al., 1996; Ellul et al., 2003), pero no existe referencia de su aplicación práctica.

A pesar de que ha sido posible introducir nuevos caracteres mediante transformación genética, el empleo comercial de estas nuevas variedades está limitado por las regulaciones legales de cada región. En la actualidad, la edición genómica (como por ejemplo la llevada a cabo con el sistema CRISPR/Cas9, Belhaj et al., 2015) se considera una alternativa a la transformación genética, que permite cambiar de forma dirigida la secuencia de genes concretos, responsables de fenotipos de interés, sin alterar el resto del genoma. El último dictamen de la Unión Europea sugiere que puede abrirse la puerta al cultivo de variedades editadas (<https://www.nature.com/articles/d41586-018-01013-5>). Existen proyectos en marcha para la aplicación de esta metodología para la mejora de cucurbitáceas. El éxito de su aplicación en la lucha contra el cambio climático pasará por disponer de genes candidatos involucrados en los caracteres de interés descritos en el apartado anterior, así como de los alelos que confieran los fenotipos favorables de los mismos. Para ello, el avance en las tecnologías de secuenciación ha sido esencial, permitiendo la generación en los últimos 10 años de genomas de calidad para la mayoría de cucurbitáceas de importancia, entre ellas el pepino, la sandía, el melón y el calabacín y las calabazas (Weng, 2017; Casacuberta et al., 2017; Montero-Pau et al., 2017). La disponibilidad de estas secuencias genómicas de referencia, asociadas a la disponibilidad de transcriptomas y genomas de colecciones de germoplasma variable dentro de cada cultivo (Blanca et al., 2011), ha facilitado la generación de colecciones de marcadores de utilidad y el desarrollo de mapas genéticos de

alta densidad. Estas colecciones de marcadores combinadas con el empleo de nuevas poblaciones de mapado, líneas recombinantes consanguíneas, líneas de introgresión, poblaciones doble-hapoides o poblaciones magic (RILs, ILs, DHLs, MAGIC) (Perpiñá et al., 2016) y poblaciones de mutantes (explotadas mediante la tecnología TILLING) (Vicente-Dólera et al., 2014), así como con el empleo de amplias colecciones de germoplasma para llevar a cabo estudios de asociación (Genome-Wide Association analysis GWAS) (Leida et al., 2015), han sido esenciales para avanzar en la cartografía genética e identificación de genes candidatos responsables de características de control genético sencillo o complejo. Muchas de las características que es necesario mejorar para responder al cambio climático presentan control genético complejo. Gonzalo y Monforte (2017) presentan una revisión actualizada de los estudios realizados para la identificación de *loci* involucrados en la variación de características cuantitativas, QTLs (quantitative trait *loci*), asociados a características de interés en cucurbitáceas. Además de QTLs involucrados en producción, peso y forma del fruto, color de la corteza y la pulpa, calidad organoléptica y nutricional del fruto, etc., se han identificado algunos QTLs de interés que controlan la arquitectura de la planta, incluyendo la longitud de los entrenudos, la ramificación lateral o el desarrollo radicular (Fita et al., 2008). También, se han clonado genes que controlan la expresión sexual (como andromonoecious (a) y gynoecious (g) de melón, o femaleness (F) y andromonoecy (M), asociados con ginoecia y andromonoecia de pepino). Este conocimiento ha permitido caracterizar el mecanismo de expresión y utilizarlos para desarrollar nuevos cultivares con distintos sistemas de expresión sexual, más adaptados a distintas condiciones ambientales (Bo et al., 2015). Así mismo, se han descrito numerosos QTLs involucrados en la precocidad de la floración y en el proceso de maduración. Es relevante la clonación reciente del factor de transcripción subyacente al QTL *ethqv6.3*, involucrado en la maduración climática del melón (Rios et al., 2017), un carácter cuya regulación es esencial en un contexto de cambio climático.

En cuanto a la resistencia a estrés biótico, entre los genes clonados de mayor interés se encuentran el gen *Vat*, que confiere resistencia a *A. gossypii*, el vector más importante de potyvirus (Dogimont et al., 2014), y los genes *Fom 1* y *Fom 2*, que confieren resistencia a distintas razas de *Fusarium oxysporum* f sp *melonis* (Brotman et al., 2013), o el gen *cmv1*, que confiere resistencia a algunas razas del *Virus del mosaico del pepino*, CMV (Giner et al., 2017). Numerosos QTLs se han identificado involucrados en la resistencia a otros patógenos virales (Palomares-Ríos et al., 2011 a WMV en melón), fúngicos (Yuste-Lisbona et al., 2011; Beraldo-Hoischen et al., 2012 a oidio en melón) y bacterianos. En estos casos se están abordando procesos de mapado de alta reso-

lución con el objeto de identificar los genes subyacentes a los QTLs. La identificación de los genes responsables facilitará la selección de alelos que resulten en fenotipos favorables para la mejora.

4. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética

Los géneros que han dado lugar a los cultivos más importantes (*Cucumis*, *Citrullus* y *Cucurbita*) se han originado y diversificado en distintas áreas geográficas. El género *Cucumis* es de origen Asiático (Schaefer et al., 2009). El melón, probablemente, se domesticó en la India, donde se encuentra la mayor diversidad de formas silvestres y cultivadas (Pitrat, 2017). Todavía hay discrepancias sobre su origen, ya que se han encontrado formas silvestres de la especie en otras regiones de Asia y también en África y Australia (las formas inicialmente descritas en Madagascar y Norte América podrían ser escapes de cultivo). Especies silvestres de la India, como *C. callosus* Rottle o *C. trigonus* Roxb, se consideran hoy formas de *C. melo*, ya que cruzan fácilmente con las formas cultivadas. Estas formas silvestres desarrollan plantas con órganos de menor tamaño, son monoicas y producen frutos amargos con muy poca cantidad de pulpa. Representan un recurso en la mejora del melón que todavía no ha sido muy utilizado, pero su distribución en distintas regiones climáticas las convierte en un germoplasma muy prometedor para la obtención de genes de adaptación a condiciones extremas. A partir de los tipos silvestres del melón ocurrieron varios sucesos de domesticación independientes, que podrían haber generado las dos subespecies que se reconocen, *melo* y *agrestis*. La subespecie *agrestis* incluiría a los llamados melones orientales, grupos de cultivares de tipo “Conomon”, “Makuwa”, “Chinensis”, “Acidulus” y “Momordica”, los tres primeros distribuidos mayoritariamente en el Lejano Oriente, apreciados en los mercados de Japón, China, Corea etc., y los dos últimos distribuidos en la India y países cercanos. Estos tipos, exóticos para los mercados occidentales, pueden encontrarse como cultivares mejorados o como variedades locales. En cualquier caso, han destacado por su variabilidad y por su resistencia a patógenos, siendo la principal fuente de los genes de resistencia empleados en la mejora del melón hasta la fecha (Pitrat, 2017). De estos grupos, el grupo Momordica se ha descrito como un recurso muy interesante en la mejora para la resistencia a la sequía, salinidad y altas temperaturas. La subespecie *melo* incluye los melones de los grupos “Cantalupensis”, “Reticulatus” e “Inodorus”, los más importantes comercialmente, entre los que se encuentran los melones can-

talupos, producidos en todo el mundo, y los melones españoles de tipo Piel de Sapo, Amarillo, etc.. Estos grupos de melones son recientes y poco variables y posiblemente derivaron de melones asiáticos pertenecientes a los grupos “Ameri”, “Chandalack”, “Flexuosus”, “Chate”, “Dudaim” etc... Estos se mantienen en la actualidad como variedades locales diversas, distribuidas mayoritariamente en Asia Central y Occidental, Europa del Este y Norte de África, que pueden explotarse para el desarrollo de nuevos cultivares. Algunos autores apuntan a la posibilidad de otro suceso de domesticación ocurrido en África, que habría dado lugar a los tipos “Tibish”, endémicos de Sudán y caracterizados más recientemente.

El pepino se domesticó en el subcontinente Indio, posiblemente en la zona oriental de la cordillera del Himalaya, donde se encuentran pepinos silvestres (pertenecientes a la var. *hardwickii* (Royle) Alef., que cruzan con el pepino cultivado, perteneciente a la var. *sativus*) y especies relacionadas, como *Cucumis hystrix* Chark. (Sebastian et al., 2010). Esta especie es menos variable que el melón, encontrándose en la India su centro de variación primario. China y Oriente Próximo son centros de diversidad secundarios, donde se pueden encontrar las variedades de mayor utilidad para la mejora. De hecho, han sido variedades de China, Taiwan, India o Pakistán las que han proporcionado la mayoría de los genes de resistencia empleados en la mejora de esta especie. La var *hardwickii* (de frutos pequeños y amargos, con muchas semillas, ramificación múltiple y cuajado secuencial no agrupado), es más variable que los tipos cultivados y constituye un recurso para incrementar su diversidad genética, aunque carece de resistencia a enfermedades (Naegele y Wehner, 2017). Se han podido también transferir genes de *C. hystrix* a *C. sativus* (fundamentalmente nuevas resistencias a patógenos, incluyendo *Didimela* y nematodos, muy infrecuente en la especie cultivada), empleando estrategias biotecnológicas de superación de barreras de incompatibilidad sexual.

Además del melón y el pepino, el género *Cucumis* incluye otras especies menores que se cultivan de forma local, como *C. anguria* y *C. metuliferus*, y silvestres distribuidas mayoritariamente en África, Asia y Australia (*C. africanus* L.f., *C. dipsaceus* Ehrenbe. Ex Spach, *C. myriocarpus* Naudin, *C. ficifolius* A. Rich, *C. zeyheri* Sond., *C. picrocarpus* F. Muehl. etc.), que presentan entre ellas distintos grados de cruzabilidad, pero no cruzan con melón y pepino. El empleo de estas especies pasa por su utilidad como portainjertos, ya que muchas muestran alta resistencia a patógenos del suelo (nematodos, fusarium, etc..) y a estrés abiótico (salinidad, estrés hídrico), difícil de encontrar en especies cultivadas (Cáceres et al., 2017). Por ejemplo, se ha descrito resistencia a nematodos en *C. africanus* y *C. myriocarpus*. Esta última tiene también resistencia a araña roja, *P. xanthii*, Fusarium, *Didimela* y virus de amarilleo. Se han hecho algunos intentos para obtener



híbridos interespecíficos entre especies silvestres de *Cucumis* spp. y el melón (Matsumoto et al., 2012) mediante control de la temperatura durante el crecimiento del tubo polínico y el cuajado del fruto. La utilización de éstas y otras especies de *Cucumis* en la mejora del pepino y melón mediante los métodos tradicionales de mejora es complicada, debido a las fuertes barreras de incompatibilidad sexual existentes. Queda mucho trabajo por hacer para caracterizar las barreras de cruzabilidad y desarrollar métodos para superarlas. No obstante, en el caso del melón, por ejemplo, si se tienen en cuenta las distintas áreas ecogeográficas en las que puede crecer la especie cultivada debe existir suficiente variabilidad para hacer frente a los estreses bióticos y abióticos ocasionados por el cambio climático. Para su aplicación se hace especialmente necesario potenciar la investigación relacionada con la búsqueda y selección de tolerancia en *C. melo* a dichos estreses.

El género *Citrullus*, a diferencia del género *Cucumis*, es de origen africano. La distribución de tipos silvestres y variedades primitivas apuntan a regiones áridas y arenosas del norte de África como origen del género (Levi et al., 2017), aunque también existen distintos tipos de *Citrullus* en Oriente Medio, Asia central y del sur y la región de Anatolia. La diversidad africana ha sido más empleada que la diversidad asiática, ya que ésta última necesita ser caracterizada con más detalle. *C. lanatus* nativa de Sudán y Egipto, que incluye la sandía, es la especie más importante del género. El género incluye seis especies más, tres de las cuales también presentan importancia económica regional, *C. amarus* Schrad. (previamente *C. lanatus* var *citroides* L.H Bailey), conocido como citron, *C. mucospermus* (Fursa) Fursa (tipos egusi) y *C. colocynthis* (coloquintida), que pueden cruzarse entre ellas, y con sandía, aunque con distintos grados de dificultad (Chomicki y Renner, 2015). Aunque existe mucha diversidad morfológica en los cultivares de *C. lanatus*, la diversidad genética es bastante reducida y, en general, no se ha descrito resistencia a estrés. El germoplasma del resto de las especies es un recurso de enorme interés en la mejora de la sandía. Por ejemplo, el citron es de origen sudafricano, adaptado a condiciones áridas, y desarrolla frutos de pulpa dura y fibrosa que se consumen cocinados o en encurtidos, siendo una fuente de agua y nutrientes esencial para animales que viven en los desiertos africanos. El germoplasma de la especie *C. mucospermus* procede del África occidental subsahariana, por lo que también está adaptado a zonas áridas. *C. colocynthis* se cultiva por sus propiedades medicinales y por el aceite de sus semillas. Aunque es de origen africano, nativa de regiones áridas y semiáridas del norte de África, se ha naturalizado en muchas partes del mundo (fundamentalmente en Asia central y sudoriental y la Cuenca Mediterránea) (Jarret et al., 1997). Otras especies del género son *C. rehmanii* De Winter y *C. ecirrhosus* Cogn,

de frutos amargos, endémicas de zonas desérticas de Namibia, y *C. naudinianus*, del sur de África. En estas especies, se ha descrito resistencia a enfermedades fúngicas o virus. Concretamente, *C. amarus* y *C. colocynthis* se están empezando a emplear como portainjertos para sandía, fundamentalmente por su resistencia a nematodos y otros patógenos del suelo (*Fusarium*, *Didimela*, antracnosis), siendo también tolerantes a *Bemisia tabaci*, oídio, potivirus y araña roja. Estas especies de origen desértico presentan sistemas radiculares más eficientes y tolerantes a la sequía y a las temperaturas extremas, siendo de especial interés para la mejora de la sandía frente al cambio climático (Levi et al., 2017).

El género *Cucurbita* es endémico de América, donde la especie *C. pepo*, se domesticó hace aproximadamente 10.000 años (Smith, 1997) formando parte del trío de cultivos que suponían la base de la alimentación en las primeras civilizaciones americanas, maíz, judía y calabaza. La clasificación actual de esta especie indica la ocurrencia de dos subespecies que incluyen tipos cultivados *C. pepo* L. subsp. *pepo* y *C. pepo* subsp. *ovifera* (L.) Decker (esta última incluye a su vez tipos silvestres distribuidos por el sur de EEUU) y una tercera que incluye solo tipos silvestres, *C. pepo* subsp. *fraterna* (Bailey) Lira, Andres & Nee, distribuidos en zonas secas de la región nor oriental de México. Teppner (2004) describe una cuarta subespecie *C. pepo* subsp. *gumala* Teppner, endémica de Guatemala. La subespecie *pepo* incluye distintos tipos de cultivares, agrupados fundamentalmente por la morfología del fruto. Los de frutos redondos, tipo "Pumpkin", son los más antiguos y diversos, que ya se conocían en América antes del descubrimiento, y los de frutos alargados, "Vegetable Marrow", "Cocozelle" y, el más importante económicamente, "Zucchini", se seleccionaron en Europa tras la difusión de la especie. Mayoritariamente se consumen los frutos inmaduros, excepto los tipos Pumpkin que se consumen, según cultivares, inmaduros o maduros. Por otro lado, la subespecie *ovifera* incluye cultivares de consumo en maduro, tipo "Acorn", de formas acorazonadas, y de consumo inmaduro de tipo "Scallop", formas discoidales (se encuentran entre los cultivares más antiguos), o "Crookneck" y "Straightneck", alargados y más populares en el mercado americano. En ambas subespecies, hay tipos ornamentales.

C. pepo es una especie anual mesofítica, al igual que la mayoría de especies cultivadas (*C. moschata*, *C. maxima* y *C. argyrosperma*), a excepción de *C. ficifolia* que es perenne. Estas otras especies fueron probablemente domesticadas en distintas regiones de Sudamérica (Paris et al., 2017). La diferencia en su origen y distribución hace que estén adaptadas a condiciones ambientales muy diversas. Por ejemplo, la utilización de *C. moschata*, es casi tan antigua como la de *C. pepo* en zonas tropicales y subtropicales de Sudamérica (Colombia, Perú, Ecuador). Para esta especie no se ha identificado



el ancestro silvestre, siendo probablemente la que más se ha diversificado fuera de su zona de origen, existiendo numerosos tipos en forma de variedades comerciales o tipos locales en todo el mundo (tipo Cheese, tipo Crookneck or Cushaw, Butternut, calabazas). Se trata de la especie más rústica y la que presenta frutos con pulpa de mayor calidad. Es sensible al frío y al día largo y de plantas muy vigorosas y, en general, de floración tardía, aunque existe variabilidad para estos caracteres, lo que le permite adaptarse a distintas latitudes. Ha sido sin duda la especie cultivada más utilizada en la mejora del calabacín, fundamentalmente por su resistencia a enfermedades de etiología fúngica y viral. *C. maxima* es originaria de zonas templadas de Argentina y Uruguay, donde se encuentra su progenitor silvestre *C. maxima* subsp. *andreaana* (Naud.) Filov (Sanjur et al., 2002). Esta especie también se ha diversificado en todo el mundo, con variedades que se distinguen fundamentalmente por el tamaño, forma y color del fruto, incluyendo algunos de los cultivares de calabaza con los frutos de mayor tamaño el género (tipo Banana, Hubbard, Golden Delicious, Show Pumpkins, Turban, Buttercup, Kabocha). *C. argyrosperma* es una especie endémica de Centroamérica, donde se encuentra su ancestro silvestre *Cucurbita argyrosperma* Huber ssp. *sororia* (L. H. Bailey) Merrick et Bates, y que no se ha difundido en el resto del mundo. Al igual que *C. moschata*, soporta mejor las altas que las bajas temperaturas. Se aprovecha por sus frutos, pero también por sus semillas. Otra especie cultivada menor es *C. ficifolia*, originaria de los valles Andinos de Sudamérica (cultivándose en zonas de elevada altitud, en zonas marginales, tanto húmedas, como secas, requiriendo ciclos muy largos para completar el cultivo), útil como portainjerto por ser resistente a las bajas temperaturas y a la salinidad. Existe un cierto nivel de cruzabilidad entre las especies cultivadas del género que puede aprovecharse en mejora. Por ejemplo, se han transferido caracteres de *C. moschata* a *C. pepo*, mientras que los cruzamientos entre *C. maxima* y *C. pepo* son más difíciles. La cruzabilidad en ambos casos es altamente dependiente de las variedades empleadas. En el caso de *C. maxima* x *C. moschata* la viabilidad de algunos cruzamientos ha sido la base del desarrollo de portainjertos para cucurbitáceas, fundamentalmente para melón y sandía (Picó et al., 2017).

En distintas regiones del norte, centro y sur de América se encuentran numerosas especies silvestres del género. Así, nativas de Norteamérica y distribuidas en México encontramos *C. foetidissima* Kunth, *C. digitata* Gray, *C. radicans* Naudin, *C. okeechobeensis* (Small) Bauley, *C. lundelliana* Bailey y *C. pedatifolia* Bailey, y de origen sudamericano *C. ecuadorensis* Cutler & Whitaker. Las especies silvestres son rastreras, de tallos finos, monoicas y con una fase extensa de floración masculina, con frutos pequeños redondos y lisos, de corteza dura y pulpa fibrosa y amarga. Algunas presentan eleva-

dos niveles de resistencia a oídio, mildiu, a virus etc (Paris, 2017) y su utilidad depende del grado de compatibilidad sexual con las especies cultivadas que se quieran mejorar. Por ejemplo, se han obtenido cruzamientos entre *C. okeechobeensis* y *C. pepo*, pero la mayoría de las especies silvestres no cruzan bien con la principal especie cultivada. *C. moschata* es una de las especies que mejor cruza con el resto y se puede emplear como puente para transferir caracteres de especies silvestres a cultivadas. De hecho, esta estrategia se empleó para transferir a *C. pepo* la resistencia a oídio derivada de *C. okeechobeensis*. Con cruces directos, por ejemplo, *C. maxima* cruza bien con *C. ecuadorensis*. Entre las especies silvestres es *C. lundelliana* la que mejor cruza con el resto. No existen estudios detallados para la caracterización de las barreras de incompatibilidad sexual, lo que mejoraría el aprovechamiento de estas especies.

Un aspecto importante en relación con el cambio climático y el aprovechamiento de los recursos fitogenéticos es la alteración de los rangos de distribución de las especies silvestres, o incluso su pérdida en algunas regiones debido a climas extremos. Lira et al. (2009) emplearon modelos bioclimáticos para determinar cómo afectarían distintos escenarios de cambio climático al rango de distribución de 8 cucurbitáceas silvestres de los géneros *Cucurbita* y *Sechium* en México (*Cucurbita argyrosperma* ssp. *sororia*, *C. lundelliana*, *C. pepo* L. ssp. *fraterna*, *C. okeechobeensis*, *Sechium chinantlense* Lira and Chiang, *S. compositum* (J. D. Smith) C. Jeffrey, *S. edule* (Jacq.) Sw. ssp. *sylvestre* Lira et Castrejón, y *S. hintonii* (P. G. Wilson) C. Jeffrey). Los resultados apuntan hacia una reducción significativa de su rango de distribución. Por ello, en un contexto de cambio climático cobra, si cabe, mayor importancia el mantenimiento de los recursos fitogenéticos, si no es posible *in situ* en zonas protegidas, *ex situ* en bancos de germoplasma, ya que los mejoradores y agricultores necesitarán tener acceso a un rango de variabilidad mayor del actual para poder afrontar los nuevos retos. Los principales bancos de germoplasma que mantienen recursos de cucurbitáceas son AVRDC (The World Vegetable Center, Taiwan), CAAS (Chinese Academy of Agricultural Sciences, P. R. of China), CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Costa Rica), CNPH (Embrapa Hortícolas, Brazil), CENARGEN (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnología, Brazil), ECCUDB (European Central Cucurbits Database, que agrupa los recursos de los bancos europeos, <http://www.comav.upv.es/eccudb.html>), IGB (Israel Gene Bank for Agricultural Crops, ARO, Volcani Center, Israel), INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Mexico), NIAS (National Institute of Agrobiological Sciences, Japan), NPGS (National Plant Germplasm System, USDA, probablemente el banco más accesible y que ha proporcionado la mayoría de las entradas empleadas en mejora hasta el momento) y UzRIPI (Uzbek Research Institute of Plant Industry, Uzbekistan).

El genotipado y la secuenciación de amplias colecciones de recursos fitogenéticos está ampliando el conocimiento de la variación genómica existente, lo que sin duda repercutirá en la optimización de estos recursos para la mejora y obtención de nuevas variedades. La mejora asistida por la genómica permitirá la rápida identificación de genes de interés agronómico y con ello la consecución de genotipos adaptados al cambio climático (Scheben et al., 2016).

5. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado con el apoyo del proyecto del programa Prometeo para proyectos de excelencia de la Generalitat Valenciana 2017/078 y de los proyectos AGL2014-53398-C02-1 y -2-R, y AGL2017-85563-C2-1 y 2-R financiados por el MINECO y cofinanciados con fondos FEDER.

6. Bibliografía

- Altieri MA, Nicholls CI. 2013. Agroecología y resiliencia al cambio climático: principios y consideraciones metodológicas. *Agroecología* 8 (1): 7-20.
- Ambrosio MMQ, Dantas ACA, Martínez-Pérez E, Medeiros, AC, Nunes, GHS Picó, B. 2015. Screening a variable germplasm collection of *Cucumis melo* L. for seedling resistance to *Macrophomina phaseolina*. *Euphytica* 206: 287–300.
- Ara N, Nakkanong K, Lu WH, Yang JH, Hu ZY, Zhang MF. 2013. Antioxidant Enzymatic Activities and Gene Expression Associated with Heat Tolerance in the Stems and Roots of Two Cucurbit Species (“*Cucurbita maxima*” and “*Cucurbita moschata*”) and Their Interspecific Inbred Line “Maxchata”. *Int J Mol Sci* 14 (12): 24008-24028.
- Belhaj K, Chaparro-García A, Kamoun S, Patron NJ, Nekrasov V. 2015. Editing plant genomes with CRISPR/Cas9. *Curr Opin Biotechnol* 32: 76–84.
- Beraldo-Hoischen P, Gómez-Guillamón ML, López-Sesé AI. 2012. QTL associated with one recessive gene for powdery mildew resistance in the melon genotype TGR-1551. In *Cucurbitaceae 2012. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae*: 498-503. (Sari, Solmaz and Aras Eds), Antalya, Turkey.
- Blanca J, Cañizares J, Roig C, Ziarsolo P, Nuez F, Picó B. 2011. Transcriptome characterization and high throughput SSRs and SNPs discovery in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *BMC Genomics* 12: 104.

- Bo K, Ma Z, Chen J, Weng Y. 2015. Molecular mapping reveals structural rearrangements and quantitative trait loci underlying traits with local adaptation in semi-wild Xishuangbanna cucumber (*Cucumis sativus* L. var. *xishuangbannanensis* Qi et Yuan). *Theor Appl Genet* 128: 25–39.
- Bordas M, Montesinos C, Dabauza M, Salvador A, Roig LA, Serrano R, Moreno V. 1996. Transfer of the yeast salt tolerance gene *hal1* to *Cucumis melo* cultivars and in vitro evaluation of salt tolerance. *Transgenic Res* 5: 1–10.
- Brotman Y, Normantovich M, Goldenberg Z, Zvirin Z, Kovalski I, Stovbun N, et al. 2013. Dual resistance of melon to *Fusarium oxysporum* races 0 and 2 and to Papaya ring-spot virus is controlled by a pair of head-to-head-oriented NB-LRR genes of unusual architecture. *Mol Plant* 6: 235–8.
- Cáceres A, Perpiñá G, Ferriol MC, Gisbert C, Picó B. 2017. New *Cucumis* rootstocks for melon: 'UPV-FA' and 'UPV-FMY'. *HortScience* 52(5): 792–797.
- Capuozzo C, Formisano G, Iovieno P, Andolfo G, Tomassoli L, Barbella MM, Picó B, Paris H, Ercolano MR. 2017. Inheritance analysis and identification of SNP markers associated with ZYMV resistance in *Cucurbita pepo*. *Mol Breed* 37(8).
- Casacuberta J, Puigdomènech P, García-Mas J. 2017. The melon genome. In: Grumet R, Katzir N, García-Mas J, editors. *Genetics and Genomics of the Cucurbitaceae*. New York: Springer Intl Pub AG.
- Célix A, López-Sesé AI, Almazara N, Gómez-Guillamón ML, Rodríguez-Cerezo E. 1996. Characterization of Cucurbit yellow stunting disorder virus, a *Bemisia tabaci* transmitted closterovirus. *Phytopathology* 86: 1370–1376.
- Chakraborty S. 2013. Migrate or evolve: options for plant pathogens under climate change. *Glob Chang Biol* 19(7): 1985–2000.
- Chambers J, Deswood H, Elías E, Havstad K, Kerr A, Rango A, Schwartz M, Steenwerth K, Steele C, Stine P, Steele R, McKinney S, Kiger L, Tse R, Hall W, Cole M, Lopez R, Hestvik S, Gonzales O, Manzanares M. 2015. Southwest Regional Climate Hub and California Subsidiary Hub Assessment of Climate Change Vulnerability and Adaptation and Mitigation Strategies. T. Anderson, Ed., United States Department of Agriculture, 76 pp.
- Chen JF, Zhou XH. 2011. *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources: Cucumis*. Kole, Chittaranjan Eds. Springer Science & Business Media.
- Chomicki G, Renner SS. 2015. Watermelon origin solved with molecular phylogenetics including Linnaean material: another example of museomics. *New Phytol* 205: 526–32.

- Cline W. 2007, *Global Warming and Agriculture: Impact Estimates by Country*, Peterson Institute for International Economics.
- Colla G, Roupael Y, Cardarelli M, Massa D, Salerno A, Rea E. 2006. Yield, fruit quality and mineral composition of grafted melon plants grown under saline conditions. *J Hort Sci Biotechnol* 81 (1): 146–152.
- Dabauza M, Bordas M, Salvador A, Roig LA, Moreno V. 1997. Plant regeneration and Agrobacterium-mediated transformation of cotyledon explants of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. *Plant Cell Rep* 16: 888–892.
- Dane F. 1991. Cytogenetics of the genus *Cucumis*. In Gupta P, Tsuchiya T, Eds. *Chromosome Engineering in Plants: Genetics, Breeding, Evolution*, Vol. Part B, Elsevier, Amsterdam: pp. 201–214.
- Dasgan HY, Balacheva E, Yetisir H, Yarsi G, Altuntas O, Akhoundnejad Y, Coban A. 2015. The Effectiveness of Grafting to Improve Salt Tolerance of Sensitive Melon When the Tolerant Melon is Use as Rootstock. *Procedia Environ Sci* 29: 268.
- Díaz-Pendón JA, Fernández-Muñoz R, Gómez-Guillamón ML, Moriones E. 2005. Inheritance of Resistance to Watermelon mosaic virus in *Cucumis melo* that impairs Virus Accumulation, Symptom Expression, and Aphid Transmission. *Phytopathology* 95(7): 840–6.
- Ding X, Jiang Y, He L, Zhou Q, Yu, J, Hui D, Huang D. 2016. Exogenous glutathione improves high root-zone temperature tolerance by modulating photosynthesis, antioxidant and osmolytes systems in cucumber seedlings. *Scientific Reports* 6: 35424.
- Dhillon NPS, Singh H, Pitrat M, Monforte AJ y McCreight JD. 2015. Snapmelon (*Cucumis melo* L. *Momordica* group), an indigenous cucurbit from India with immense value for melon breeding. *Acta Horticulturae* 1102: 99–108.
- Dogimont C, Chovelon V, Pauquet J, Boualem A, Bendahmane A. 2014. The Vat locus encodes for a CC-NBS-LRR protein that confers resistance to *Aphis gossypii* infestation and *A. gossypii*-mediated virus resistance. *Plant J* 80: 993–1004.
- Elad Y, Pertot I. 2014. Climate Change Impacts on Plant Pathogens and Plant Diseases *Journal of Crop Improvement* 28: 99–139.
- Ellul P, Rios G, Atares A, Roig LA, Serrano R, Moreno V. 2003. The expression of the *Saccharomyces cerevisiae* HAL1 gene increases salt tolerance in transgenic watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsun. & Nakai.]. *Theor Appl Genet* 107: 462–469.
- FAOSTAT. 2017. Statistics Division Food and Agriculture Organization of the United Nations.

- Ferriol M, Picó B, Nuez F. 2007. Genetic diversity of Cucurbita spp. in the Canary Islands: a bridge between America and Europe. In: Proceedings of the XVII Eucarpia Genetic Resources Section Meeting. Castelsardo, Italy. p. 25–32.
- Ferriol M, Picó B. 2008. Pumpkin and Winter Squash. In: Prohens J., Nuez F. Eds. Vegetables I. Handbook of Plant Breeding, vol 1. Springer, New York, NY.
- Fita A, Picó B, Monforte AJ, Nuez F. 2008. Genetics of root system architecture using near-isogenic lines of melon. *J Am Soc Hortic Sci.*133: 448–58.
- Fita A, Nuez F, Picó B. 2011. Diversity in root architecture and response to P deficiency in seedlings of Cucumis melo L. *Euphytica* 181(3): 323-339.
- Fredes A, Roselló S, Beltrán J, Cebolla-Cornejo J, Pérez de Castro A, Gisbert C, Picó B. 2017. Fruit quality assessment of watermelons grafted onto citron melon rootstock. *J Sci Food Agric* 97(5): 1646-1655.
- Gaba V, Zelcer A, Gal-on A. 2004. Cucurbit Biotechnology: the importance of virus resistance. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 40: 346–358.
- Ghini R, Bettiol W, Hamada EP. 2011. Diseases in tropical and plantation crops as affected by climate changes: current knowledge and perspectives. *Plant Pathology*, 60(1): 122-133.
- Gilardi G, Gisi U, Garibaldi A, Gullino ML. 2017. Effect of elevated atmospheric CO₂ and temperature on the chemical and biological control of powdery mildew of zucchini and the Phoma leaf spot of leaf beet. *Eur J Plant Pathol* 148 (1): 229–236.
- Giner A, Pascual L, Bourgeois M, Martín-Hernández AM. 2017. A mutation in the melon Vacuolar Protein Sorting 41 prevents systemic infection of Cucumber mosaic virus. *Scientific Reports* 7(1).
- Gonzalo MJ, Monforte AJ. 2017. Genetic Mapping of Complex Traits in Cucurbits. In: Grumet R., Katzir N., García-Mas J. Eds. Genetics and Genomics of Cucurbitaceae. *Plant Genetics and Genomics: Crops and Models*, vol 20. Springer, Cham.
- Grumet R, Colle M. 2017. Genomic Analysis of Cucurbit Fruit Growth. In: Grumet R., Katzir N., García-Mas J. Eds. Genetics and Genomics of Cucurbitaceae. *Plant Genetics and Genomics: Crops and Models*, vol 20. Springer, Cham
- Guis M, Roustan JP, Dogimont C, Pitrat M, Pech JC. 1998. Melon biotechnology. *Bio-technol Genet Eng Rev* 15: 289–311.
- Guo C, Yang X, Wang Y, Nie J, Yang Y, Sun J, Du H, Zhu W, Pan J, Chen Y, Lv D, He H, Lian H, Pan J Cai R. 2018. Identification and mapping of ts (tender spines), a gene involved in soft spine development in Cucumis sativus. *Theor Appl Genet* 131: 1–12.

- Gur A, Gonda I, Portnoy V, Tzuri G, Chayut N, Cohen S, Yeselson Y, Meir A, Bar E, Davidovitz-Rikanati R, Saar U, Paris H, Burger J, Tadmor Y, Lewinsohn E, Schaffer AA, Katzir N. 2017. Genomic Aspects of Melon Fruit Quality. In: Grumet R., Katzir N., García-Mas J. Eds. Genetics and Genomics of Cucurbitaceae. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models, vol 20. Springer, Cham.
- Hedhly A, Hormaza JI, Herrero M. 2009. Global warming and sexual plant reproduction. Trends Plant Sci Vol.14 No.130-36.
- Hoover SER, Ladley JJ, Shchepetkina AA, Tisch M, Giese SP, Tylianakis JM. 2012. Warming, CO₂, and nitrogen deposition interactively affect a plant-pollinator mutualism. Ecology Letters 15 (3): 227-234.
- Jarret RL, Merrick LC, Holms T, Evans J, Aradhya MK. 1997. Simple sequence repeats in watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai]. Genome 40: 433-41.
- Johannsson MH, Stephenson AG. 1998. Effects of temperature during microsporogenesis on pollen performance in *Cucurbita pepo* L. (Cucurbitaceae). Int J Plant Sci 159: 616-626.
- Levi A, Jarret R, Kousik S, Wechter W, Nimmakayala P, Reddy UK. 2017. Genetic Resources of Watermelon. In: Grumet R., Katzir N., García-Mas J. Eds. Genetics and Genomics of Cucurbitaceae. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models, vol 20. Springer, Cham.
- Leida C, Moser C, Esteras C, Sulpice R, Lunn JE, de Langen F, Monforte AJ, Picó B. 2015. Variability of candidate genes, genetic structure and association with sugar accumulation and climacteric behavior in a broad germplasm collection of melon (*Cucumis melo* L.). BMC Genetics, 28 (16): 1-27.
- Lira R, Téllez O, Dávila P. 2009. The effects of climate change on the geographic distribution of Mexican wild relatives of domesticated Cucurbitaceae. Genet Resour Crop Evol 56(5): 691-703.
- Li Y, Xu A, Dong W, Li Z, Li, G. 2016. Genetic Analysis of a Dwarf Vine and Small Fruit Watermelon Mutant. Horticultural Plant Journal 2 (4): 224-228.
- Liu S, Li H, Lu X, Ahammed G, Xia X, Zhou J, Shi K, Asami T, Yu J, Zhou Y. 2016. Grafting cucumber onto *Luffa* improves drought tolerance by increasing ABA biosynthesis and sensitivity. Scientific Reports 6: 20212.
- Matsumoto Y, Miyagi M, Watanabe N, Kuboyama T. 2012. Temperature-dependent enhancement of pollen tube growth observed in interspecific crosses between wild *Cucumis* spp. and melon (*C. melo* L.). Scientia Horticulturae 138 (1): 144-150.

- McCreight JD, Wintermantel WM, Natwick ET, Sinclair JW, Crosby KM, Gómez-Guillamón, ML. 2017: Recessive resistance to Cucurbit yellow stunting disorder virus in melon TGR 1551. *Acta Horticulturae* 1151: 101–107.
- Montero-Pau J, Blanca JM, Bombarely A, Ziarsolo P, Esteras C, Martí-Gómez C, Ferriol M, Gómez P, Jamilena M, Mueller LA, Picó B, Cañizares J. 2017. De novo assembly of the zucchini genome reveals a whole genome duplication associated with the origin of the Cucurbita genus. *Plant Biotech J* doi: 10.1111/pbi.12860.
- Mou B. 2011. Improvement of Horticultural Crops for Abiotic Stress Tolerance: An Introduction. *Hortscience* 46 (8).
- Munster Van M, Yvon M, Vile D, Dader B, Fereres A, Blanc S. 2017. Water deficit enhances the transmission of plant viruses by insect vectors. *PLoS One*, 3, 12 (5): e0174398.
- Naegele RP, Wehner TC. 2017. Genetic Resources of Cucumber. In: Grumet R., Katzir N., García-Mas J. Eds. *Genetics and Genomics of Cucurbitaceae*. *Plant Genetics and Genomics: Crops and Models*, vol 20. Springer, Cham.
- Navratilova B, Skalova D, Ondrej V, Kitner M, Lebeda A. 2011. Biotechnological methods utilized in Cucumis research - A review. *Hort Sci (Prague)* 38: 150-158.
- Nimmakayala P, Islam-Faridi N, Tomason YR, Lutz F, Levi A, Reddy, UK. 2011. *Citrullus*. In Kole, Chittaranjan Eds. *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Springer Science & Business Media.
- Palomares-Rius FJ, Viruel MA, Yuste-Lisbona FJ, López-Sesé AI, Gómez-Guillamón ML. 2011. Simple sequence repeat markers linked to QTL for resistance to Watermelon mosaic virus in melon. *Theor Appl Genet*. 123: 207–214.
- Pandey P, Irulappan V, Bagavathiannan MV, Senthil-Kumar M. 2017. Impact of Combined Abiotic and Biotic Stresses on Plant Growth and Avenues for Crop Improvement by Exploiting Physio-morphological Traits. *Front. Plant Sci*. 8: 537
- Paris HS. 2008. Summer Squash. In Prohens J, Nuez F. Eds. *Vegetables I. Handbook of Plant Breeding*, vol 1. Springer, New York, NY.
- Paris HS. 2017. Genetic Resources of Pumpkins and Squash, *Cucurbita* spp. In: Grumet R., Katzir N., García-Mas J. Eds. *Genetics and Genomics of Cucurbitaceae*. *Plant Genetics and Genomics: Crops and Models*, vol 20. Springer, Cham.
- Peet MM, Wolfe DW. 2000. Crop ecosystem responses to climatic change: vegetable crops. In: Reddy, K. R.; Hodges, H. F. Eds. *Climate change and global crop productivity* pp.213-243.



- Perpiñá G, Esteras C, Gibon Y, Monforte AJ, Picó B. 2016. A new genomic library of melon introgression lines in a cantaloupe genetic background for dissecting desirable agronomical traits. *BMC Plant Biology* 16 (1): 154.
- Picó B, Thompson A, Gisbert C, Yetisir H, Bebeli P. 2017. Chapter 2: Genetic resources for rootstock breeding. In Colla G, Pérez-Alfocea F, Schwarz D. Eds. *Vegetable Grafting: Principles and Practices*. Chapter 2. Publisher CAB International. 22-68.
- Pitrat M. 2008. Melon. In Prohens J, Nuez F. Eds. *Vegetables I. Handbook of Plant Breeding*, vol 1. Springer, New York, NY.
- Pitrat M. 2017. Melon Genetic Resources: Phenotypic Diversity and Horticultural Taxonomy. In: Grumet R., Katzir N., García-Mas J. Eds. *Genetics and Genomics of Cucurbitaceae*. *Plant Genetics and Genomics: Crops and Models*, vol 20. Springer, Cham.
- Pugliese M, Liu J, Titone P, Garibaldi A, Gullino ML. 2012. Effects of elevated CO₂ and temperature on interactions of zucchini and powdery mildew. *Phytopathologia Mediterranea*, 51 (3): 480-487.
- Rader R, Reilly J, Bartomeus I, Winfree R. 2013. Native bees buffer the negative impact of climate warming on honeybee pollination of watermelon crops. *Global Change Biol* 19: 3103-3110.
- Ríos P, Argyris J, Vegas J, Leida C, Kenigswald M, Tzuri G, Troadec Ch, Bendahmane A, Katzir N, Picó B, Monforte AJ, García-Mas J. 2017. ETHQV6.3 is involved in melon climacteric fruit ripening and is encoded by a NAC domain transcription factor. *The Plant Journal* 91 (4): 671-683.
- Rodriguez-Granados NY, Lemhemdi A, Choucha FA, Latrassé D, Benhamed M, Boualem A, Bendahmane A. 2017. Sex Determination in Cucumis. In: Grumet R., Katzir N., García-Mas J. Eds. *Genetics and Genomics of Cucurbitaceae*. *Plant Genetics and Genomics: Crops and Models*, vol 20. Springer, Cham.
- Robinson RW, Decker-Walters DS. 1997. *Cucurbits*. Wallingford, Oxon, U.K. New York, N.Y.: CAB International. 226 pp.
- Sáez C, Esteras C, Martínez C, Ferriol M, Dhillon N, López C, Picó, B. 2017. Resistance to Tomato leaf curl New Delhi virus in melon is controlled by a major QTL located in chromosome 11. *Plant Cell Reports* 36(10): 1571-1584.
- Sanjur OI, Piperno DR, Andres TC, Wessel-Beaver L. 2002. Phylogenetic relationships among domesticated and wild species of *Cucurbita* (Cucurbitaceae) inferred from a mitochondrial gene: implications for crop plant evolution and areas of origin. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 535-40.

- Saramento GG, Alpert K, Tang FA, Punja ZK. 1992. Factors influencing *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation and expression of kanamycin resistance in pickling cucumber. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 31: 185–193.
- Sebastian P, Schaefer H, Telford IRH, Renner SS. 2010. Cucumber (*Cucumis sativus*) and melon (*C. melo*) have numerous wild relatives in Asia and Australia, and the sister species of melon is from Australia. *Proc Natl Acad Sci USA* 107(32): 14269-73.
- Schaefer H, Heibl C, Renner, S. 2009. Gourds afloat: a dated phylogeny reveals an Asian origin of the gourd family (Cucurbitaceae) and numerous oversea dispersal events. *Proc Biol Sci* 7, 276 (1658): 843-51.
- Scheben A, Yuan Y, Edwards D. 2016. Advances in genomics for adapting crops to climate change. *Current Plant Biology* 6: 2-10.
- Smith BD. 1997. The initial domestication of *Cucurbita pepo* in the Americas 10,000 years ago. *Science*. 276: 932-934.
- Staub JE, Robbins MD, Wehner TC. 2008. Cucumber. In Prohens J, Nuez F. Eds. *Vegetables I. Handbook of Plant Breeding*, vol 1. Springer, New York, NY.
- Teppner H. 2004. Notes on *Lagenaria* and *Cucurbita* (Cucurbitaceae): review and new contributions. *Phyton* 44: 245-308.
- Tricoli DM, Carney KJ, Russell PF, Quemada HD, McMaster RJ, Reynolds JF, Deng RZ. 2002. Transgenic plants expressing DNA constructs containing a plurality of genes to impart virus resistance. US patent 6,337,431.
- Trulson AJ, Simpson RB, Shahin EA. 1986. Transformation of cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants with *Agrobacterium rhizogenes*. *Theor Appl Genet* 73:11–15.
- Vicente-Dólera N, Troadec C, Moya M, del Río-Celestino M, Pomares-Viciano T, Bendahmane A, et al. 2014. First TILLING Platform in *Cucurbita pepo*: A New Mutant Resource for Gene Function and Crop Improvement. *PLoS ONE* 9(11): e112743. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112743>.
- Vinoth A, Ravindhran R. 2016. Efficient plant regeneration of watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) via somatic embryogenesis and assessment of genetic fidelity using ISSR markers. *In vitro Cell Dev Biol* 52, 1: 107-115.
- Wan S, Kang Y, Wang D, Liu S. 2010. Effect of saline water on cucumber (*Cucumis sativus* L.) yield and water use under drip irrigation in North China. *Agricult Water Manag* 98, 1: 105-113.
- Wang W, Vinocur B, Altman A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 218: 1–14.



- Weng Y. 2016. The cucumber genome. In: Grumet R, Katzir N, García-Mas J, Eds. Genetics and Genomics of the Cucurbitaceae. New York: Springer Intl Pub AG.
- Wien HC. 1997. The Cucurbits: Cucumber, Melon, Squash and Pumpkin. In Wien, H.C., Eds The Physiology of Vegetable Crops. New York, NY, CAB International: 345-386.
- Wehner TC. 2008. Watermelon. In: Prohens J., Nuez F. Eds. Vegetables I. Handbook of Plant Breeding, vol 1. Springer, New York, NY.
- Yong X, Guo S. 2016. The watermelon genome. In: Grumet R, Katzir N, García-Mas J, Eds. Genetics and Genomics of the Cucurbitaceae. New York: Springer Intl Pub AG.
- Yuste-Lisbona FJ, Capel C, Gómez-Guillamón ML, Capel J, López-Sesé AI, Lozano R. 2011. Codominant PCR-based markers and candidate genes for powdery mildew resistance in melon (*C. melo* L.). *Theor Appl Genet* 122: 747-758.
- Zhang H, Gong G, Guo S, Xu, Y. 2011. Screening the USDA Watermelon Germplasm. Collection for Drought Tolerance at the Seedling Stage. *HortScience* 46(9): 1245-1248.
- Zhu JK. 2001. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci* 6: 66-71.



Capítulo X.

LAS LEGUMINOSAS ANTE EL CAMBIO CLIMÁTICO

Diego Rubiales^{1*}, María J. González-Bernal¹ y Estefanía Carrillo-Perdomo²

1 Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Córdoba, España.

2 INRA, UMR1347 Agroecologie, Dijon, Francia.

*Coordinador: diego.rubiales@ias.csic.es

CONTENIDO:

1. Introducción
2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro
3. Objetivos de mejora
 - 3.1. Estabilidad de los rendimientos y adaptación a nuevos ambientes
 - 3.2. Resistencia a estreses bióticos
 - 3.3. Resistencia a estreses abióticos
 - 3.4. Mejora de la fisiología y arquitectura de la planta
 - 3.5. Mejora de la calidad nutricional
4. Nuevas tecnologías aplicadas a la mejora genética
5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética
6. Agradecimientos
7. Bibliografía



Capítulo X.

LAS LEGUMINOSAS ANTE EL CAMBIO CLIMÁTICO

1. Introducción

Las leguminosas son el conjunto de especies de la familia *Fabaceae*. Es ésta una de las familias más numerosas del reino vegetal al incluir del orden de 800 géneros y 20.000 especies distribuidas a través de una gran diversidad de hábitats y con una extensa variedad de hábitos de crecimiento, desde herbáceas hasta arbóreas (Lewis et al., 2005; de la Rosa et al., 2016). Las principales características diferenciadoras de las leguminosas respecto del resto de cultivos son su asociación simbiótica con bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico (N₂) (Peix et al., 2015) y su alto contenido proteico (Martín et al., 2016), lo que las hace esenciales para garantizar el futuro de la agricultura sostenible y de la seguridad alimentaria. De hecho, las leguminosas se encuentran entre las primeras plantas recolectadas y domesticadas por el hombre como fuente de alimento tanto animal como humano (Rubio y Molina, 2016; Vaz Patto et al., 2015). A lo largo de la historia, todas las grandes civilizaciones han contado con una especie de leguminosa como componente proteico primario de su dieta, acompañando a un cereal o tubérculo como fuente de hidratos de carbono (Cubero, 2016; de Ron et al., 2016).

En la actualidad, las leguminosas representan la segunda familia en importancia entre las plantas cultivadas, situándose después de los cereales. Ocupan del orden del 13% de la superficie cultivable a nivel mundial, proporcionando el 33% de las proteínas de la dieta humana y el 15% de las proteínas de los piensos concentrados usados para alimentación animal (FAOSTAT, 2018). Esto, sin tener en cuenta el consumo de leguminosas forrajeras por los rumiantes, que es del 10% de su peso y supone más del 60% de su alimentación. La Figura 1 muestra la evolución de superficie cultivada con leguminosas grano en España, Europa y el mundo en los últimos 60 años. En España destaca la continua disminución de casi todas ellas, con excepción del guisante, que es la única cuyo cultivo ha aumentado. Las leguminosas forrajeras no se incluyen en la figura por no disponer de series históricas de datos, pero destacamos por su importancia la alfalfa con 118 mil hectáreas en 2016 (MAPAMA, 2018).

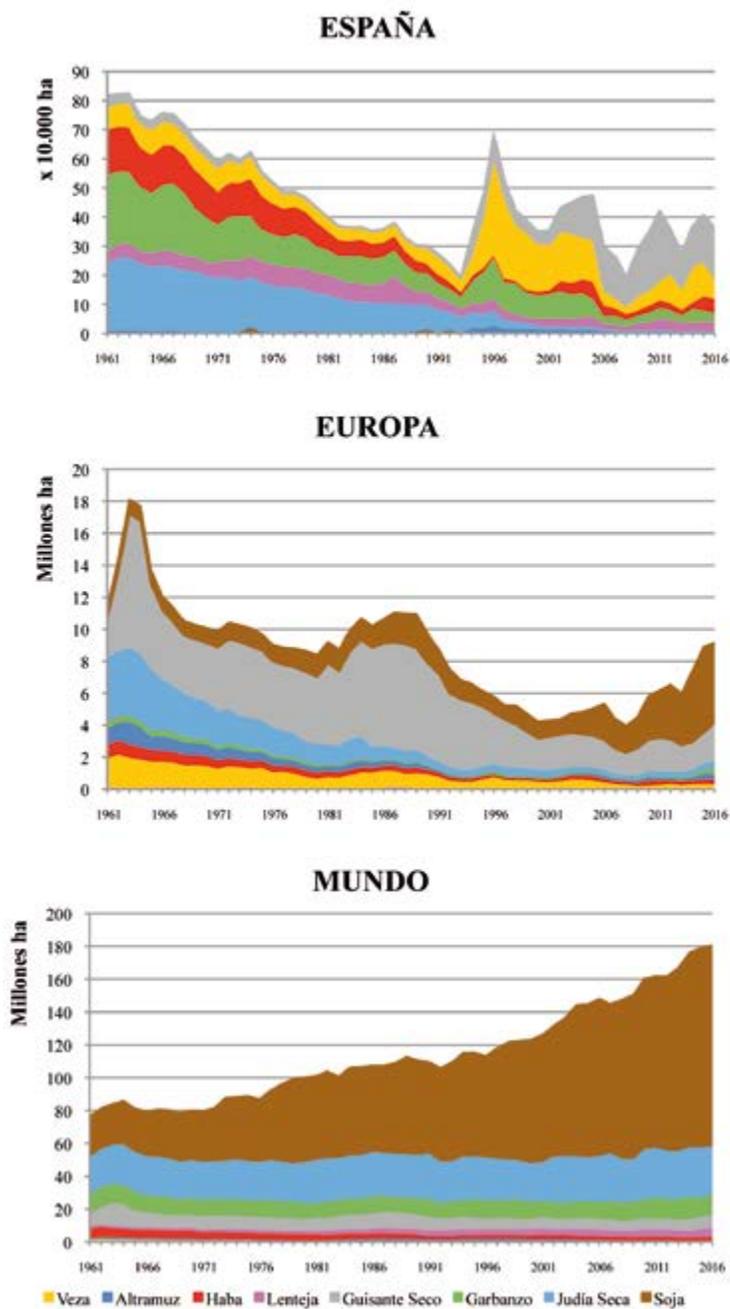


Figura 1. Evolución del cultivo (ha) del conjunto de las principales leguminosas grano en España, Europa y el mundo.

La subfamilia *Papilionoideae* es la más extensa, incluyendo géneros tan importantes en agricultura como *Arachis*, *Cicer*, *Glycine*, *Hedysarum*, *Lathyrus*, *Lens*, *Lotus*, *Lupinus*, *Medicago*, *Phaseolus*, *Pisum*, *Trifolium* o *Vicia* entre muchos otros, que cubren las principales especies cultivadas bien sea para el consumo de su grano o como forraje (Tabla 1). Son tantas las leguminosas de interés, que resulta imposible cubrirlas todas en este capítulo. Nos centraremos por tanto en las de mayor importancia histórica o actual en España, en concreto, los garbanzos (*Cicer arietinum*), los guisantes (*Pisum sativum*), las habas (*Vicia faba*), las judías (*Phaseolus vulgaris*), las lentejas (*Lens culinaris*), los altramuces (*Lupinus* spp.) y la alfalfa (*Medicago sativa*) (Tabla 1). Mencionaremos también la soja (*Glycine max*) que, aunque sea poco cultivada en España, sí que tiene una elevada repercusión a nivel comercial al ser la leguminosa más importada (más de 3,4 millones de toneladas en la actualidad), siendo su uso principal la elaboración de piensos concentrados para alimentación de ganado.

Como vemos, se trata de una familia de gran complejidad que incluye numerosas especies de interés con usos muy diversos y de consumo casi global, lo cual genera confusión incluso a la hora de denominarlas. Un agrupamiento lógico sería según su uso, con lo que tendríamos: i) las leguminosas hortícolas, en las que se aprovechan tallos, hojas, vaina o el grano fresco para consumo humano; ii) las leguminosas grano, en las que se aprovecha el grano seco, bien sea para alimentación humana (estrictamente hablando, sólo éstas serían “legumbres”) o animal; y iii) las forrajeras, en las que se aprovecha la planta completa para alimentación animal, bien sea a diente (pasto), ensilado o empacado. Pero no es tan simple, ya que la mayoría de especies tienen usos múltiples. Así, por ejemplo, de guisante no sólo hay variedades de grano para piensos y variedades de grano verde para alimentación humana, sino también variedades en las que lo que se consume es la vaina (los tipos tirabeque), o incluso variedades para consumo de brotes verdes para sopas o ensaladas, muy apreciados en China, por no hablar de las variedades forrajeras. El caso más extremo viene representado por la soja que, a pesar de ser una leguminosa grano (ya que lo que se usa fundamentalmente es su semilla), suele ser catalogada como oleaginosa por el alto contenido en aceite. Del grano se extrae primero el aceite y posteriormente se usa la torta resultante para la fabricación de piensos por su alto contenido proteico; además de servir para la elaboración de una larga serie de subproductos de la alimentación humana (lecitina, etc.). Tanto es así, que es difícil encontrar un producto alimenticio elaborado que no contenga algún subproducto de la soja (Martín et al., 2016). Sin olvidar el consumo del grano fresco y de los brotes germinados.

En este capítulo abordaremos el impacto que el cambio climático tiene sobre los cultivos de leguminosas y cómo éstos serán capaces de adaptarse al endurecimiento de las condiciones ambientales y a la creciente expansión y severidad de las enfermedades y plagas que les afectan.

2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro

No hay ninguna duda entre la comunidad científica de que la producción de gases de efecto invernadero está acelerando una serie de alteraciones del clima. Las expectativas para España son de riesgo de aumento de las temperaturas y descenso de las precipitaciones. Se prevé para mediados de este siglo un incremento de la temperatura atmosférica de 1-4 °C, lo que conllevará un aumento de la evapotranspiración, agravando aún más las consecuencias del descenso generalizado de precipitaciones anuales. El aumento de CO₂ atmosférico podría aportar ventajas fotosintéticas aunque su efecto se reduciría en condiciones de sequía y alta temperatura. Además, una elevación de CO₂ parece que afectaría negativamente a la calidad nutricional de las legumbres, ocasionando la reducción del contenido proteico y el empobrecimiento mineral (de la Rosa et al., 2016).

Hay consenso internacional en la necesidad de reducir la emisión de los gases de efecto invernadero, aunque no tanto consenso político en la forma de conseguirlo. Uno de los puntos claves que no se discute es la necesidad de potenciar la inclusión de las leguminosas en las rotaciones para fijar el nitrógeno atmosférico. Y es que las leguminosas tienen mucho que aportar a la paliación de las causas que aceleran el cambio climático al reducir la emisión de gases de efecto invernadero, ya que en su conjunto utilizan entre un 35 y un 60% menos de energía fósil que los sistemas agrícolas que se fertilizan con N inorgánico (Jensen et al., 2012). Gracias a la capacidad de asociación simbiótica, las leguminosas hacen biológicamente útil el N₂ gaseoso y mejoran la relación C/N del suelo, previniendo la pérdida de fertilidad. Además, el sistema radicular de las leguminosas suele ser de crecimiento profundo y penetrante, lo cual mejora la estructura del suelo y su aireación y previene la erosión.

La asociación leguminosa-rizobio supone una fuente de nitrógeno renovable para la agricultura que se ha estimado en 21,5 millones de toneladas al año para las leguminosas grano, a lo que habría que añadir una cantidad similar, aunque más difícil de estimar, para el conjunto de las forrajeras (Herridge et al., 2008). Este aporte se estima que permite una reducción del consumo total de fertilizantes nitrogenados



en todos los sistemas agrícolas de entre un 24% (leguminosas grano) y un 38% (leguminosas forrajeras) (Reckling et al., 2016). La producción mundial de fertilizantes nitrogenados se ha incrementado en más de 4 veces en los últimos 50 años, representando más del 60% del total de fertilizantes usados en agricultura, bien sea en forma de amonio, urea, o nitrato. Buena parte de éstos no son aprovechados por las plantas sino que son lixiviados y acaban en los acuíferos. El menor uso de fertilizantes nitrogenados permite, a su vez, reducir el consumo de energías fósiles y las emisiones de gases de efecto invernadero asociadas al proceso de fabricación, así como las emisiones de óxido nitroso en los suelos (Jensen et al., 2012). El óxido nitroso es un potente gas invernadero cuya principal fuente está en la actividad microbiana de suelos y aguas enriquecidas en nitratos por la aplicación masiva de fertilizantes nitrogenados. Se estima que los sistemas de cultivo que incluyen una leguminosa emiten, como media, un 18% menos de óxido nitroso, subiendo esta reducción a un 33% en el caso de pastizales (Reckling et al., 2016).

Todas estas características hacen que las leguminosas sean consideradas especies resilientes, componentes fundamentales de una agricultura sostenible que permita alcanzar la seguridad alimentaria de una población mundial en rápido crecimiento y mitigar el cambio climático (FAO, 2013). Las leguminosas pueden jugar un excelente papel en la diversificación de los sistemas agrícolas, no ya solo en su forma temporal (rotaciones) sino también espacial, en asociación con otros cultivos en la misma parcela, contribuyendo a la mejora de los sistemas sostenibles de producción de alimentos, fibra y energía. Para ello es necesario impulsar programas de mejora eficientes que suministren variedades adaptadas a la situación actual y futura (Jensen et al., 2012).

3. Objetivos de mejora

Las leguminosas se encuentran entre los cultivos más importantes a nivel mundial para consumo animal y humano, solo detrás de los cereales. Sin embargo, el rendimiento de la mayoría de las leguminosas es relativamente bajo debido a una limitada inversión en mejora, lo que las ha dejado descolgadas respecto a otros cultivos. Como resultado, y a pesar los beneficios mencionados, el cultivo de la mayoría de las leguminosas ha disminuido en España y Europa en los últimos 55 años, lo que contrasta con la tendencia creciente a nivel mundial (Figura 1). Es cierto que, como resultado de los cambios en los hábitos alimentarios, el consumo de legumbres en España y Europa ha disminuido notablemente hasta los 3 kg/persona/

año, estando muy por debajo de las recomendaciones de los nutricionistas y de la media mundial (del orden de 7 kg/persona/año). Pero este descenso en el consumo humano no explica por sí solo la reducción del cultivo, ya que nos vemos obligados a importar entre el 60-80% de la demanda nacional de legumbres. Además, el mayor consumo de carne ha provocado un aumento en el consumo de leguminosas para pienso, cuyo cultivo también disminuye, lo que aumenta aún más nuestra dependencia (González-Bernal y Rubiales, 2016).

Es por tanto muy conveniente desde el punto de vista nutricional aumentar el consumo de legumbres, pero resulta ingenuo proponer que ésta sea la principal medida necesaria para reintegrar a las leguminosas en las rotaciones aprovechando así sus beneficios medioambientales. Aumentar el consumo sin actuar sobre las medidas necesarias para impulsar su cultivo y producción solo aumentaría aún más su importación, como de hecho ya ocurre para todas las legumbres, y particularmente para la soja que es cada vez más consumida sin que por ello se aumente su cultivo en España de forma significativa sino que, por el contrario, siguen aumentando las importaciones. La solución no puede ser otra que el desarrollo de variedades que resulten más atractivas tanto al consumidor (calidad) como al productor (rendimiento, adaptación) a través de programas de mejora genética y del ajuste de técnicas de cultivo.

3.1 ESTABILIDAD DE LOS RENDIMIENTOS Y ADAPTACIÓN A NUEVOS AMBIENTES

El mayor problema de las leguminosas no es otro que la escasa inversión en su mejora, de modo que con la continua intensificación de los sistemas agrícolas han ido siendo reemplazadas por otros cultivos como los cereales o el girasol, los cuales se han adaptado mejor a los avances tecnológicos y resultan más rentables para el agricultor. De hecho, el trigo tenía rendimientos medios similares a los de las habas en la década de los 60, pero como resultado de la inversión en el desarrollo de mejores variedades y del ajuste de las prácticas de cultivo sus rendimientos han aumentado continuamente, con una ganancia anual de 41 kg/ha/año. Gracias a esto, los rendimientos medios del trigo triplican hoy día a los de habas y guisantes, que al igual que el resto de las leguminosas mantienen rendimientos muy similares a los de entonces, con una ganancia anual inferior a 10 kg/ha/año (Figura 2). Esta tendencia solo puede revertirse con una adecuada inversión en el desarrollo de mejores variedades. El ejemplo más claro de respuesta a la inversión en mejora lo tenemos en la soja, con rendimientos medios a nivel mundial cercanos a los 3.000 kg/ha y una ganancia anual 30 kg/ha/año (FAOSTAT, 2018).

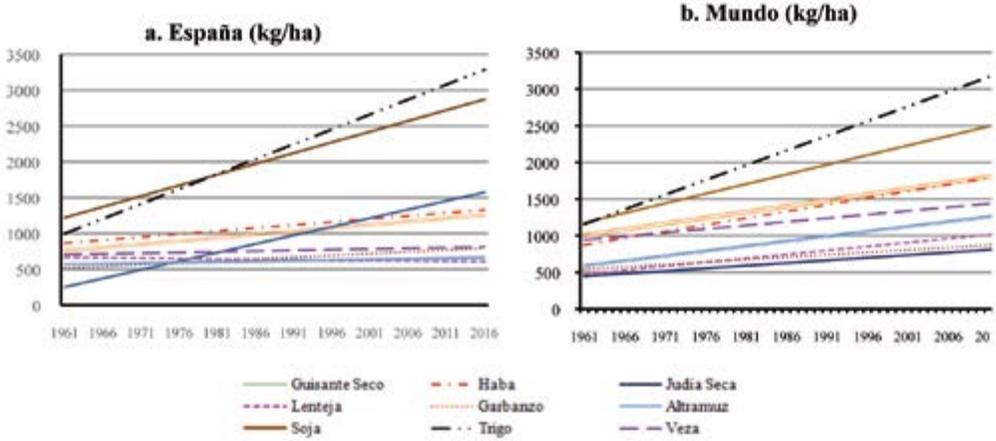


Figura 2. Evolución de los rendimientos medios (kg/ha) de las principales leguminosas comparadas con el trigo: a) en España; b) el mundo.

Es por tanto necesario desarrollar nuevas variedades con mayor potencial productivo y adaptación a distintos ambientes, así como resistentes a factores adversos y de mayor calidad, como se verá en las siguientes secciones. Un objetivo buscado en muchos cultivos es el desarrollo de variedades adaptadas a siembras invernales para así alargar el ciclo del cultivo, aprovechando las lluvias y aumentando así el rendimiento potencial. Pero esto implica resolver primero problemas de resistencia a frío en algunos casos, y a enfermedades en otros. Por ejemplo, el garbanzo se ha sembrado tradicionalmente en primavera para escaparse al riesgo de epidemias severas de rabia (*Ascochyta rabiei*), y solo cuando ya se dispone de variedades resistentes a esta enfermedad se está en condiciones de ir a las tan deseadas siembras de invierno que permiten duplicar los rendimientos.

Un ejemplo de adaptación a nuevas áreas es la profunda mejora ejercida sobre el altramuz azul (*Lupinus angustifolius*) que en apenas un siglo ha pasado de ser una especie silvestre nativa del Mediterráneo, a ser la más cultivada en Centro Europa y Australia. Para ello pasó por un rápido proceso de domesticación inicial, reduciendo la dehiscencia, para después reducir el contenido en alcaloides en las semillas, eliminar los requerimientos de vernalización y seleccionar por tolerancia a sequía y altas temperaturas (Berger et al., 2013). En contraste, las especies tradicionalmente cultivadas (*L. albus* o *L. luteus*) están en retroceso, a pesar de su potencial, ya que no se ha invertido lo suficiente en su mejora.

Otro ejemplo relevante es la expansión reciente de la lenteja y el guisante en Canadá, país que ha pasado en pocas décadas de no conocer esos cultivos a ser el mayor productor y exportador mundial. Todo esto partiendo de cero y como resultado de una concienzuda labor de mejora para sacar a estos cultivos de su zona de “confort”, empezando por seleccionar ciclos cortos que se adaptarán a ser cultivados durante sus veranos, que son los pocos meses en que el suelo no está cubierto de nieve. Es oportuno mencionar que estos dos ejemplos de expansión en Australia y Canadá son el resultado de una labor aplicada de mejora y desarrollo tecnológico dirigido por universidades y centros públicos de investigación, pero con financiación mayoritariamente procedente del sector productivo, de modo que agricultores e industriales se organizan en asociaciones, bien sea Pulse Canada (<http://www.pulsecanada.com/>) o la australiana GRDC (Grain Growers Research Organization; <http://www.graingrowers.com.au/>) que financian y, por tanto, marcan las prioridades de estos programas que son los más fuertes del mundo.

Por otro lado, la subida de precios de la soja está instando a su introducción en nuevas áreas. En la última década su cultivo ha aumentado en los países de la cuenca del Danubio, habiendo pasado a ser en pocos años la leguminosa más cultivada en Europa (Figura 1) (González-Bernal y Rubiales, 2016). De forma similar su cultivo está aumentando rápidamente en países de África subsahariana, unido al desarrollo de variedades adaptadas a esas zonas (Duc et al., 2015). No obstante, las posibilidades de expansión de la soja en España están limitadas por ser un cultivo de verano con altas necesidades hídricas, quedando restringida a regadíos en segunda cosecha como sustituto del maíz, cuya expansión o no dependerá de los precios que se alcancen en el mercado. La alternativa a medio-largo plazo para un país con la mayor parte de la superficie agrícola de secano como España, sería el desarrollo de variedades adaptadas a siembras más tempranas y con menores necesidades hídricas.

3.2. RESISTENCIA A ESTRESSES BIÓTICOS

Como cualquier otro cultivo, las leguminosas pueden ser atacadas por una serie de plagas y enfermedades, pero con el problema agravado de que suelen estar menos estudiadas al ser, en general, cultivos menores. A esto se une una menor disponibilidad de pesticidas registrados con uso autorizado, lo cual es particularmente grave en el caso de herbicidas. La incidencia e importancia relativa de cada estrés varía para cada región y puede verse afectada por las prácticas de cultivo. Así, por ejemplo, en la cuenca Mediterránea adquieren más importancia *Orobanche*, royas y fusariosis, mien-

tras que en climas más fríos y húmedos preocupan más otras enfermedades como los mildius, podredumbres radicales y bacteriosis. Asimismo, para un mismo cultivo en una misma zona, la fecha de siembra afecta enormemente al riesgo de sufrir ciertas enfermedades, de modo que, por ejemplo, las siembras primaverales permiten cierto escape a las infecciones de *Orobanche*, mildius o ascoquitas, pero pueden sufrir más incidencia de oídios, royas o fusariosis (Rubiales et al., 2009; Stoddard et al., 2010). Estos factores determinan las prioridades de los programas de mejora.

El éxito en el desarrollo de variedades resistentes a enfermedades depende de la disponibilidad de buenas fuentes de resistencia, de un método rápido y fiable de evaluación y de la herencia del carácter. Se han logrado avances espectaculares en la identificación y uso de fuentes de resistencia genética en el desarrollo de variedades de leguminosas (Rubiales, 2017). Así, se dispone de métodos fiables de identificación de resistencia en colecciones de germoplasma a todo tipo de estreses bióticos (Infantino et al., 2006; Rubiales et al., 2006; Sillero et al., 2006; Tivoli et al., 2006), lo que no solo permite un progreso en la comprensión de la interacción planta/patógeno y su base genética, sino que permite su uso directo en el desarrollo de variedades resistentes (Rubiales et al., 2015).

Se han identificado fuentes de resistencia y localizado QTL (Quantitative Trait Loci) y genes de resistencia en todos los cultivos, tantas que no podemos enumerar detalladamente, baste con citar una serie de revisiones en alfalfa (Annicchiarico et al., 2015), garbanzo (Millán et al., 2006; Rubio et al., 2011), guisante (Rubiales et al., 2011), habas (Sillero et al., 2010; Torres et al., 2011), judías (Miklas et al., 2006), almorta (Vaz Patto y Rubiales, 2014), lenteja (Muehlbauer et al., 2006; Pérez-de-la-Vega et al., 2011) o soja (Kumawat et al., 2016), entre muchos otros.

3.3. RESISTENCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS

El estrés hídrico es un factor a considerar en cualquier programa de mejora, que se complica cada vez más dado la cada vez menor predictibilidad del clima, lo que fuerza a seleccionar genotipos que no sólo toleren la sequía, sino que también respondan adecuadamente ante impredecibles episodios de encharcamientos. Otros estreses abióticos de importancia en ciertos cultivos son la salinidad, la toxicidad por metales pesados en ciertos suelos, las deficiencias minerales (como fósforo, hierro o boro), las heladas tempranas causando muerte de plantas, o las altas o bajas temperaturas durante la floración causando aborto de flores y frutos (Araújo et al., 2015).

Adelantar la fecha de siembra para aprovechar las lluvias invernales permite aumentar el potencial productivo, pero conlleva riesgos de incidencia de ciertas enfermedades

como mencionamos antes, a la vez que posibles daños causados por bajas temperaturas y encharcamientos. Esto no es un gran problema en los suaves inviernos mediterráneos donde en realidad solemos cultivar en invierno variedades de primavera, pero no podemos olvidar el riesgo de daños por heladas tardías que pueden dañar la floración, particularmente en garbanzos y lentejas. La resistencia a frío es un problema en climas continentales, donde el desarrollo de variedades con resistencia a frío que permitan siembras invernales es un objetivo prioritario. Así, hay programas específicos de mejora de guisante (Bourion et al., 2003) y habas de invierno (Flores et al., 2012).

El problema del déficit hídrico se ha abordado de forma diferente en las distintas leguminosas, dependiendo de los recursos disponibles. Se ha explotado con cierto éxito en la mayoría de las leguminosas el escape a la sequía, seleccionando genotipos de ciclo más corto y de evitación por un sistema radicular más desarrollado y profundo (Turner et al., 2001; Vadez et al., 2012). No obstante, también se han identificado y explotado mecanismos de evitación que minimizan la pérdida de agua, controlando la transpiración o adaptación osmótica o de tolerancia a la desecación con estabilidad de las membranas en prácticamente todas las leguminosas (Krishnamurthy et al., 2010; Beebe et al., 2013; Iglesias-García et al., 2015).

3.4. MEJORA DE LA FISIOLOGÍA Y ARQUITECTURA DE LA PLANTA

Como ya hemos mencionado antes, se han buscado ciclos más cortos para escapar a la sequía, sistemas radiculares más profundos para explorar mejor el agua y nutrientes del suelo. Otra tendencia en otras especies es la selección de cultivares de crecimiento determinado para uniformizar la fecha de fructificación y permitir la recolección mecánica. La mejora de la arquitectura de la planta también favorecerá la reducción de la incidencia de ciertas enfermedades y plagas al mejorar la aireación, así como evitar el encamado. En cultivos como el guisante se da prioridad a los genotipos áfilos ya que al enredarse los zarcillos de las plantas próximas se disminuye la probabilidad de encame (Duc et al., 2015).

3.5. MEJORA DE LA CALIDAD NUTRICIONAL

Las leguminosas son apreciadas por su alto contenido proteico que, dependiendo de la especie, puede oscilar entre 20-40%, habiéndose centrado los programas de mejora en incrementar estos valores, sin prestar suficiente atención a la calidad de esta proteína que depende de la composición de aminoácidos y de una serie de compuestos bioactivos que reducen la digestibilidad (Vaz Patto, 2016). Además de aumentar el contenido de proteína, es deseable actuar sobre la calidad de esta proteína en térmi-



nos de composición de aminoácidos y digestibilidad, y reducir los factores de flatulencia. La cocción, inactiva parcialmente los inhibidores de proteasas a la vez que inducen cambios conformacionales en las proteínas con lo que se incrementa la digestibilidad de la proteína hasta valores superiores al 85-90% (Martín et al., 2016), pero son procesos que requieren energía. También es cierto que la deficiencia de aminoácidos azufrados puede ser solventada complementando las raciones con cereales o simplemente añadiendo éstos aminoácidos. Igualmente, los oligosacáridos responsables de la flatulencia se pueden reducir por simple procesamiento, ya que el remojo previo a su consumo y la eliminación de esa agua reducen en más de un 50% el contenido de estos azúcares en los granos. Pero lo deseable es actuar sobre todos estos factores desde la mejora genética, que está empezando a dar sus frutos en algunos casos, como el desarrollo de variedades de habas sin taninos (Crepon et al., 2010), de soja baja en inhibidores de tripsina (Clarke y Wiseman, 2000) o de guisantes bajos en fitatos (Warkentin et al., 2012). Se presta también interés a la biofortificación, sobre todo al hierro para paliar problemas de anemia (Tan et al., 2017). Se dispone asimismo de variabilidad para estos caracteres y se han identificado QTLs asociados a niveles más altos de proteína, aminoácidos, aceite, minerales o compuestos antinutricionales como ácido fítico, vicina/convicina (Torres et al., 2011; Bohra et al., 2015; Khazaei et al., 2015; Shunmugam et al., 2015; Vaz Patto et al., 2015) que permitirán acelerar los procesos de selección. Además, mediante ingeniería genética se ha mejorado la composición de aminoácidos azufrados (Dinkins et al., 2001) y la biofortificación en minerales.

4. Nuevas tecnologías aplicadas a la mejora genética

Las modernas tecnologías de genómica y transformación están relativamente menos desarrolladas en el conjunto de las leguminosas que en otros grupos de cultivos, aunque se están produciendo avances espectaculares en los últimos años. Las tecnologías genómicas de alto rendimiento se aplican ya en diversas leguminosas, permitiendo el desarrollo de marcadores moleculares para construir mapas genéticos de alta resolución, y acelerando el desarrollo de estrategias de mejora genómica asistida (Varshney et al., 2015; Foyer et al., 2016). Al avanzar en genotipado estamos constatando que el fenotipado está aflorando como un verdadero cuello de botella. De hecho, se está invirtiendo mucho en el desarrollo de plataformas de fenotipado capaces de medir de una manera muy precisa rasgos morfológicos y fisiológicos y de generar imágenes de alto rendimiento (Fahlgren et al., 2015). No cabe duda de la necesidad de prestar la debida importancia a la correcta caracterización fenotípica, bien sea de la

calidad, resistencia, rendimiento o cualquier otro carácter, en colecciones de germoplasma o en materiales segregantes objeto de estudios genéticos o de mejora.

Ya se dispone del genoma completo de una serie de leguminosas incluyendo legumbres como garbanzo y judía, “oleaginosas” como la soja, o los progenitores del cacahuete (*Arachis spp.*), arbustivas como el frijol de palo (*Cajanus cajan*), o especies modelo como *Lotus japonicus* y *Medicago truncatula* (Guether et al., 2009; Schmutz et al., 2010, 2014; Pandey et al., 2016). La secuenciación del genoma de guisante, lenteja y altramuz azul están también avanzados (Smýkal et al., 2015) y hay iniciativas para acometerlo en otras especies. La carencia de recursos genómicos en muchas especies cultivadas se ha intentado suplir durante los últimos años secuenciando primero especies modelo como *M. truncatula* y *L. japonicus* y buscando la co-localización de QTLs de las especies cultivadas gracias a las relaciones sinténicas (Kaló et al., 2011; Gujaria-Verma et al., 2014; Webb et al., 2016). El rápido desarrollo y abaratamiento de las técnicas de genotipado mediante secuenciación (GBS, Genotyping by Sequencing) y/o mediante chips (array-based genotyping) está facilitando su aplicación en especies de leguminosas cultivadas aún no secuenciadas. El número de marcadores disponibles de todo tipo aumenta rápidamente para todas las especies, lo que permite el mapeo cada vez más preciso de QTL/genes de interés (Duarte et al., 2014; Kaur et al., 2014; Sindhu et al., 2014; Varshney et al., 2015; Barilli et al., 2018). Empezamos pues a estar en condiciones de aplicar la selección asistida por marcadores o incluso la selección genómica (Annicchiarico et al., 2017) en especies en las que hace pocos años era impensable, aunque ya era una realidad en judía y soja.

La generación de dobles haploides, tan deseable en mejora, ha tenido poco éxito en las leguminosas por su dificultad de regeneración a pesar de los múltiples esfuerzos realizados por muchos grupos (Croser et al., 2007; Lulsdorf et al., 2011). Para suplir ese problema, la tendencia actual es el desarrollo acelerado de generaciones en condiciones controladas, combinando tratamientos térmicos y de luz con tratamientos hormonales y cultivo *in vitro* que, según el cultivo, permiten obtener 4-6 generaciones al año, y así llegar en 1-2 años a fijar una población (Ochatt et al., 2002; Bermejo et al., 2016; Mobini y Warkentin, 2016).

Esta conocida recalcitrancia de las leguminosas a la regeneración *in vitro* ha dificultado también el desarrollo de transgénicos (Somers et al., 2003), pero aunque menos eficientes que en otros cultivos, se dispone de protocolos para casi todas las especies. Se han usado principalmente para introducir resistencia a herbicidas, plagas y enfermedades (Morton et al., 2000; Romeis et al., 2004; Ignacimuthu y Prakash, 2006; Wally y Punja, 2010; Guo et al., 2015; Martins-Salles et al., 2017), pero es indudable su interés para mejorar muchos



otros caracteres tanto en forrajeras (Wang y Brummer, 2012) como en legumbres (Eapen, 2008). No obstante, las restricciones legales aplicadas en algunos países ralentizan su desarrollo y expansión. Mención especial tiene la tecnología CRISPR/Cas, basada en la edición del genoma, que ya ha sido utilizada en *M. truncatula* (Meng et al., 2017) y en soja (Sun et al., 2015) y, sin duda, se extenderá pronto a todas las leguminosas.

5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética

La larga historia de cultivo de legumbres en la península ibérica lleva asociada una gran riqueza genética, relativamente bien conservada en diversas colecciones de germoplasma. No obstante, esto se traduce en un número relativamente bajo de variedades incluidas en el Registro de Variedades Comerciales (Tabla 1) para la mayoría de las especies, lo que muestra el limitado esfuerzo reciente en mejora genética. Entre las especies de las que más variedades hay disponibles para su comercialización en España, destacan las judías, habas y guisantes, y dentro de éstas, los tipos hortícolas.

El éxito en el desarrollo de variedades mejoradas depende de la disponibilidad de buenas fuentes de diversidad genética integradas en los programas de mejora. Sin embargo, aunque existe una gran diversidad genética tanto en las especies cultivadas como en especies silvestres próximas, la mayor parte de esta diversidad disponible en bancos de germoplasma no ha sido suficientemente caracterizada. Es de justicia mencionar la meritoria labor de conservación realizada por el Centro de Recursos Fitogenéticos de INIA (<http://wwwx.inia.es/coleccionescrf/PasaporteCRF.asp>). La tendencia es similar en otras regiones, y de hecho se estima que el 15% de las muestras conservadas en el conjunto de bancos del mundo son de leguminosas grano (de la Rosa et al., 2016). A nivel europeo, se recomienda visitar el catálogo de EURISCO (<https://eurisco.ipk-gatersleben.de>) donde se recogen todos los bancos europeos. A nivel mundial, GENESYS engloba la mayoría de los bancos (<https://www.genesys-pgr.org>). Entre los bancos no europeos con buena representación de leguminosas destacan el de ICARDA con unas 73.000 entradas (<https://www.icarda.org/research-sub/biodiversity-and-its-utilization>), el del CIAT con unas 38.000 (<http://genebank.ciat.cgiar.org/genebank/beancollection.do>), el de USDA, Estados Unidos, con unas 30.000 (<https://www.ars-grin.gov/>), APG de Australia con unas 50.000 (http://www.pir.sa.gov.au/research/australian_pastures_genebank), Australian Grains Genebank, con unas 23.000 (<https://www.genesys-pgr.org/es/content/news/55/australian-grains-genebank>), o EMBRAPA con más de 3.000 entradas.

Tabla 1. Principales especies cultivadas de cada género, indicando variedades comerciales y recursos genéticos disponibles

Género	Principales especies cultivadas		Nº variedades en registro europeo de comerciales en activo ¹ (de éstas, en registro español)	Entradas disponibles		Otras especies de interés por ser cultivadas o por poder usarse en cruzamientos
	Nombre científico	Nombre común		Total mundial ² (en España ³)	en bancos europeos ³ (en España ⁴)	
<i>Pisum</i>	<i>P. sativum</i> ssp. <i>sativum</i>	Guisante	1.426 (31)	>48.000	30.455 (1.727)	<i>P. abyssinicum</i> , <i>P. fulvum</i> , <i>P. ssp. elatius</i> , <i>arvense</i> ,
<i>Lens</i>	<i>L. culinaris</i> ssp. <i>culinaris</i>	Lenteja	32 (4)	>31.000	9.260 (665)	<i>L. ervoides</i> , <i>L. nigricans</i> , <i>L.c. ssp. odemensis</i> , <i>orientalis</i>
<i>Vicia</i>	<i>V. faba</i>	Haba	311 (38)	>52.000	28.084 (3.463)	<i>Vs. ssp. amphicarpa</i> , <i>devia</i> , <i>incisa</i> , <i>macrocarpa</i> , <i>nigra</i>
	<i>V. sativa</i>	Veza	129 (31)		12.320 (1.467)	
	<i>V. villosa</i>	Veza vellosa	25 (2)		7.526 (1.005)	
	<i>V. narbonensis</i>	Alvejón	2 (2)		1.264 (124)	
	<i>V. ervilia</i>	Yero	6 (5)		538 (26)	
					1.235 (271)	
<i>Lathyrus</i>	<i>L. sativus</i>	Almorta	5 (0)	>13.000	6.791 (576)	<i>L. clymenum</i> , <i>L. ochrus</i> , <i>L. gorgoni</i>
	<i>L. cicera</i>	Titarro	6 (0)		3.249 (217)	
	<i>L. odoratus</i>	Guisante olor	51 (0)		696 (189)	
					49 (0)	
<i>Cicer</i>	<i>C. arietinum</i>	Garbanzo	100 (32)	>65.000	11.956 (1.370)	<i>C. reticulatum</i> , <i>C. echinospermum</i>
<i>Phaseolus</i>	<i>P. vulgaris</i>	Judía	1.686 (120)	>116.000	52.179 (4.591)	<i>P. albensis</i> , <i>P. dumosus</i> , <i>P. costarricense</i> , <i>P. lunatus</i>
	<i>P. coccineus</i>	Ayocote	93 (0)		46.621 (3.616)	
					3.064 (121)	
<i>Glycine</i>	<i>G. max</i>	Soja	453 (7)	>60.000	16.281 (133)	<i>G. soja</i>
<i>Vigna</i>	<i>V. unguiculata</i>	Caupí	3 (0)	>58.000	14.805 (129)	<i>V. nervosa</i> , <i>V. radiata</i> , <i>V. mungo</i>
					6.437 (501)	
<i>Arachis</i>	<i>A. hypogaea</i>	Cacahuete	8 (0)	>31.000	3.817 (487)	<i>A. monticola</i>
					3.349 (19)	
					3.347 (18)	
<i>Lupinus</i>				>19.000	13.187 (1.991)	

Género	Principales especies cultivadas		Nº variedades en registro europeo de comerciales en activo ¹ (de éstas en registro español)	Entradas disponibles		Otras especies de interés por ser cultivadas o por poder usarse en cruzamientos
	Nombre científico	Nombre común		Total mundial ²	en bancos europeos ³ (en España)	
<i>L. albus</i>	<i>L. albus</i>	Altramuz blanco	22 (1)	3.783 (743)		
	<i>L. angustifolius</i>	Altramuz azul	47 (1)	2.857 (690)		<i>L. mutabilis</i> , <i>L. elegans</i> , <i>L. hispanicus</i> , <i>L. greudensis</i>
	<i>L. luteus</i>	Altramuz amarillo	14 (1)	2.950 (359)		
<i>Trifolium</i>	<i>T. pretense</i>	Trébol rojo	233 (5)	9.463 (18)		
	<i>T. repens</i>	Trébol blanco	144 (3)	4.734 (24)		
	<i>T. resupinatum</i>	Trébol persa	26 (0)	315 (36)		<i>T. striatum</i> , <i>T. cherleri</i> , <i>T. glomeratum</i> , <i>T. hybridum</i>
	<i>T. alexandrinum</i>	Trébol Alejandría	43 (0)	222 (1)		
	<i>T. incarnatum</i>	Trébol encarnado	39 (0)	208 (7)		
	<i>T. subterraneum</i>	Trébol subterráneo	6 (0)	5.778 (2.282)		
<i>Medicago</i>	<i>M. sativa</i>	Alfalfa	394 (22)	16.744 (1.111)		
	<i>M. lupulina</i>	Alfalfa amarilla	5 (0)	7.800 (108)		
	<i>M. polymorpha</i>	Carretones	1 (0)	555 (12)		<i>M. arabica</i> , <i>M. italica</i> , <i>M. orbicularis</i> , <i>M. littoralis</i> , <i>M. murex</i> , <i>M. dolabrata</i> , <i>M.s. ssp. falcata</i> , <i>varia</i> ...
	<i>M. truncatula</i>		1 (0)	949 (438)		
				1.710 (45)		
<i>Trigonella</i>			>2.000	599 (23)		
<i>Onobrychis</i>	<i>T. foenum-graecum</i>	Alholva	6 (0)	312 (11)		
	<i>O. viciifolia</i>	Esparceta	25 (0)	1.880 (56)		
<i>Ornithopus</i>				657 (21)		
	<i>O. sativus</i>	Serradella	2 (0)	1.197 (594)		
	<i>O. compressus</i>	Pie de pájaro	2 (0)	225 (9)		
<i>Hedysarum</i>				885 (557)		
	<i>H. coronarium</i>	Zulla	9 (0)	166 (43)		
<i>Lotus</i>				124 (38)		
	<i>L. corniculatus</i>	Loto de los prados	31 (0)	2.643 (56)		
				0.941		

1 Registro oficial de Variedades Comerciales de la Unión Europea (CPVO) y/o catálogos nacionales (OEVV, y otros), en activo a fecha 16/02/2018, obtenidos de <http://cpvoextranet.cpvo.europa.eu> • 2 Según GENESYS (<https://www.genesys-pgr.org/>) • 3 Según EURISCO (<https://eurisco.ipk-gatersleben.de/>) • 4 <http://www.inia.es/coleccionescrf/PasaporteCRF.asp>



Caracterizar un número tan grande de entradas es difícil, por lo que la estrategia recomendada es el desarrollo de colecciones nucleares que, con un número “manejable” de entradas bien seleccionadas, engloben gran parte de la variabilidad disponible en la especie. Tales colecciones nucleares han sido propuestas para las mayoría de las especies usando datos de pasaporte, y deben ser genotipadas y fenotipadas en detalle (Sharma et al., 2013; Smykal et al., 2015; Holdsworth et al., 2017).

A parte de esta conservación en bancos de germoplasma (*ex situ*) sería necesario promover la conservación *in situ* para mantener la dinámica poblacional y, por tanto, la evolución de la especie frente a los factores abióticos y bióticos. El Global Crop Diversity Trust ha realizado un inventario priorizando las necesidades de conservación (www.cwrdiversity.org/checklist/), en el que la familia con más representación es la de las leguminosas, con 253 géneros con prioridad, entre los que se encuentran *Cicer*, *Glycine*, *Lens*, *Lupinus*, *Phaseolus*, *Pisum* o *Vicia*.

6. Agradecimientos

A Ana Moral, la técnica irremplazable que sustentó todos nuestros trabajos. Todos reconocemos su valía humana y profesional. Fue el motor de nuestros programas, pero murió sin que la institución fuera capaz de darle un contrato acorde ni a su titulación, ni a su valía, ni a la relevancia de sus responsabilidades. Nos solemos quejar de la precariedad de los becarios e investigadores, pero olvidamos a veces la precariedad de los excelentes obreros y técnicos.

A los proyectos AGL2014-52871-R y AGL201782907-R por financiar nuestros trabajos.

7. Bibliografía

- Annicchiarico, P., Barrett, B., Brummer, E.C., Julier, B. and Marshall, A.H. 2015. Achievements and challenges in improving temperate perennial forage legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34:327-380, doi: 10.1080/07352689.2014.898462.
- Annicchiarico, P., Nazzicari, N., Wei, Y., Pecetti, L. and Brummer, E.C. 2017. Genotyping-by-Sequencing and its exploitation for forage and cool-season grain legume breeding. *Frontiers in Plant Science* 8:679. doi: 10.3389/fpls.2017.00679
- Araújo, S.S., Beebe, S., Crespi, M., Delbreil, B., González, E.M., Gruber, V., Lejeune-Henaut, I., Link, W., Monteros, M.J., Prats, E., Rao, I., Vadeez, V. and Vaz Patto,



- M.C. 2015. Abiotic stress responses in legumes: Strategies used to cope with environmental challenges. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34:237-280. doi:10.1080/07352689.2014.898450.
- Barilli, E., Cobos, M.J., Carrillo, E., Kilian, A., Carlin, J. and Rubiales, D. 2018. A high-density integrated DArTseq SNP-based genetic map of *Pisum fulvum* and identification of QTLs controlling rust resistance. *Frontiers in Plant Science* 9: 167, doi: 10.3389/fpls.2018.00167.
- Beebe, S., Rao, I.M., Blair, M. and Acosta, J. 2013. Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Plant Physiology* 4:35.
- Berger, J.D., Clements, J.C., Nelson, M.N., Kamphuis, L.G., Singh, K. B. and Buirchell, B. 2013. The essential role of genetic resources in narrow-leaved lupin improvement. *Crop Pasture Science* 64:361-373.
- Bermejo, C., Gatti, I. and Cointry, E. 2016. In vitro embryo culture to shorten the breeding cycle in lentil (*Lens culinaris* Medik). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 127:585-590. <https://doi.org/10.1007/s11240-016-1065-7>
- Bohra, A., Sahrawat, K. L., Kumar, S., Joshi, R., Parihar, A. K., Singh, U. and Singh, N. P. 2015. Genetics- and genomics-based interventions for nutritional enhancement of grain legume crops: status and outlook. *Journal of Applied Genetics* 56:151-161. <https://doi.org/10.1007/s13353-014-0268-z>.
- Bourion, V., Lejeune-Hénaut, I., Munier-Jolain, N. and Salon, C. 2003. Cold acclimation of winter and spring peas: carbon partitioning as affected by light intensity. *European Journal of Agronomy* 19:535-548.
- Clarke, E.J. and Wiseman, J. 2000. Developments in plant breeding for improved nutritional quality of soya beans II. Anti-nutritional factors. *The Journal of Agricultural Science* 134:125-136.
- Crepon, K., Marget, P., Peyronnet, C., Carrouee, B., Arese, P. and Duc, G. 2010. Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. *Field Crops Research* 115:329-339. doi:10.1016/j.fcr.2009.09.016
- Croser, J.S., Lulsdorf, M.M., Davies, P.A., Clarke, H.J., Bayliss, K.L., Mallikarjuna, N. and Siddique, K.H.M. 2007. Toward doubled haploid production in the fabaceae: progress, constraints, and opportunities. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25:139-157. doi: 10.1080/07352680600563850
- Cubero, J.I. 2016. Legumbres: el pan del pobre. *Arbor* 192 (779):a312.
- De la Rosa, L., Fajardo, J., Beltrán, J. P., Cañas, L. A., Pueyo, J. J., Rubiales, D., Bedmar, E. J., Correa-Galeote, D., Peix, A., Ramírez-Bahena, M. H., Aranjuelo, I. and Hernández, J.

- A. 2016. Las legumbres en una agricultura sostenible. En: A.Clemente y A. M. de Ron (eds.), *Las Legumbres*, Editorial Catarata, ISBN 978-84-00-10164-0, Pp 79-110.
- De Ron, A.M., Rubiales, D, González-Bernal, M.J., Suso, M.J., Gil, J., Rubio, J., Córdoba, E.M., Nadal, S., Pérez, M., Alonso, J. and de Miguel, E. 2016. Las legumbres en España. En: A. Clemente y A. A. de Ron (eds.), *Las Legumbres*, Editorial Catarata, ISBN 978-84-00-10164-0, Pp 35-78.
- Dinkins, R.D., Reddy, M. S. S., Meurer, C.A., Yan, B., Trick, H., Thibaud-Nissen, F., Finer, J.J., Parrott, W.A. and Collins, G.B. 2001. Increased sulfur amino acids in soybean plants overexpressing the maize 15 kDa zein protein. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant* 37:742-747. doi:10.1079/IVP2001205
- Duarte, J., Rivière, N., Baranger, A., Aubert, G., Burstin, J., Cornet, L., Lavaud, C., Lejeune-Hénaut, I., Martinant, J. P., Pichon, J. P., Pilet-Nayel, M. L. and Boutet, G. 2014. Transcriptome sequencing for high throughput SNP development and genetic mapping in Pea. *BMC Genomics* 15:126. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-126>
- Duc, G., Agrama, H., Bao, S., Berger, J., Bourion, V., De Ron, A. M., Gowda, C.L.L., Mikić, A., Millot, D. Singh, K.B., Tullu, A., Vandenberg, A., Vaz Patto, M.C., Warkentin, T.D. and Zong, X. 2015. Breeding annual grain legumes for sustainable agriculture: New methods to approach complex traits and target new cultivar ideotypes. *Critical Review in Plant Sciences* 34:381-411. doi:10.1080/07352689.2014.898469.
- Eapen, S. 2008. Advances in development of transgenic pulse crops. *Biotechnology Advances* 26:162-168.
- Fahlgren, N., Gehan, M.A. and Baxter, I. 2015. Lights, camera, action: high-throughput plant phenotyping is ready for a close-up. *Current Opinion in Plant Biology* 24:93-99. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2015.02.006>
- FAO 2013. *Climate-Smart Agriculture Sourcebook*.
- FAOSTAT. 2018. *Statistical databases*.
- Flores, F., Nadal, S., Solis, I., Winkler, J., Sass, O., Stoddard, F.L., Link, W., Raffiot, B., Muel, F. and Rubiales, D. 2012. Faba bean adaptation to autumn sowing under European climates. *Agronomy for Sustainable Development* 32:727-734.
- Foyer, C.H., Lam, H.M., Nguyen, H.T., Siddique, K.H.M., Varshney, R.K., Colmer, T. D., Cowling, W., Bramley, H., Mori, T.A., Hodgson, J.M., Cooper, J.W., Miller, A. J., Kurnert, K., Vorster, J., Cullis, C., Ozga, J.A., Wahlqist, M.L., Liang, Y., Shou, H., Shi, K., Yu, J., Fodor, N., Kaiser, B.N., Wong, F., Valliyodan, B. and Considine, M.J. 2016. Ne-

- glecting legumes has compromised human health and sustainable food production. *Nature Plants* 2:16112. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.112>
- González-Bernal, M.J., y Rubiales, D. 2016. Las leguminosas grano en la agricultura española y europea. *Arbor* 192:a311. doi:10.3989/arbor.2016.779n3001.
- Guether, M., Balestrini, R., Hannah, M., He, J., Udvardi, M.K. and Bonfante, P. 2009. Genome-wide reprogramming of regulatory networks, transport, cell wall and membrane biogenesis during arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Lotus japonicus*. *New Phytologist* 182:200-212. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02725.x>
- Gujaria-Verma, N., Vail, S. L., Carrasquilla-Garcia, N., Penmetsa, R.V., Cook, D.R., Farmer, A.D., Vandenberg, A. and Bett, K.E. 2014. Genetic mapping of legume orthologs reveals high conservation of synteny between lentil species and the sequenced genomes of Medicago and chickpea. *Frontiers in Plant Science* 5:676. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00676>
- Guo, X., Chronis, D., de la Torre, C. M., Smeda, J., Wang, X. and Mitchum, M.G. 2015. Enhanced resistance to soybean cyst nematode *Heterodera glycines* in transgenic soybean by silencing putative CLE receptors. *Plant Biotechnology Journal* 13:801-810. <https://doi.org/10.1111/pbi.12313>
- Herridge, D.F., Peoples, M.B. and Boddey, R.M. 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. *Plant & Soil* 311:1-18.
- Holdsworth, W.L., Peng Cheng, E.G., Myers, J.R., Gore, M.A., Coyne, C.J., McGee, R.J. and Mazourek, M. 2017. A community resource for exploring and utilizing genetic diversity in the USDA pea single plant plus collection. *Horticulture Research* 4:17017. doi:10.1038/hortres.2017.17
- Iglesias-García, R., Prats, E., Fondevilla, S., Satovic, Z. and Rubiales, D. 2015. Quantitative Trait Loci associated to drought adaptation in pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*, 33:1768-1778. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0872-z>
- Ignacimuthu, S. and Prakash, S. 2006. Agrobacterium-mediated transformation of chickpea with alpha-amylase inhibitor gene for insect resistance. *Journal of Biosciences* 31:339-345.
- Infantino, A., Kharrat, M., Riccioni, L., Coyne, C.J., McPhee, K. E. and Grünwald, N.J. 2006. Screening techniques and sources of resistance to root diseases in cool season food legumes. *Euphytica* 147:201-221. doi:10.1007/s10681-006-6963-z.
- Jensen, E.S., Peoples, M.B., Boddey, R.M., Gresshoff, P.M., Henrik, H.N., Alves, B.J.R. and Morrison, M. J. 2012. Legumes for mitigation of climate change and the provi-

- sion of feedstock for biofuels and biorefineries. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32:329-364. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0056-7>.
- Kaló, P., Cjoi, H.K., Ellis, N. and Kiss, G.B., 2011. Senteny and comparative genomics between model and cool season grain legumes. En: M. Pérez-de-la-Vega, A. M. Torres, J. I. Cubero y C. Kole (eds), *Genetics, Genomics and Breeding of Cool Season Grain Legumes*. Science Publishers, Enfield, NH, pp. 285-302. ISBN 978-1-57808-765-5.
- Kaur, S., Kimber, R.B.E., Cogan, N. O.I., Materne, M., Forster, J.W. and Paull, J.G. 2014. SNP discovery and high-density genetic mapping in faba bean (*Vicia faba* L.) permits identification of QTLs for ascochyta blight resistance. *Plant Science* 217-218: 47-55. doi:10.1016/J.PLANTSCI.2013.11.014.
- Khazaei, H., O'Sullivan, D.M., Jones, H., Pitts, N., Sillanpää, M.J., Pärssinen, P., Manninen, O. and Stoddard, F.L. 2015. Flanking SNP markers for vicine-convicine concentration in faba bean (*Vicia faba* L.). *Molecular Breeding* 35:38. <https://doi.org/10.1007/s11032-015-0214-8>
- Krishnamurthy, L., Kashiwagi, J., Gaur, P. M., Upadhyaya, H. D. and Vadez, V. 2010. Sources of tolerance to terminal drought in the chickpea (*Cicer arietinum* L.) mini-core germplasm. *Field Crops Research* 119:322-330.
- Kumawat, G., Gupta, S., Ratnaparkhe, M.B., Maranna, S. and Satpute, G.K. 2016. QTLomics in soybean: a way forward for translational genomics and breeding. *Frontiers in Plant Science* 7:1852. doi:10.3389/fpls.2016.01852.
- Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B. and Lock, M. 2005. *Legumes of the World*. Kew Richmond, Surrey, UK.: Royal Botanic Gardens.
- Lulsdorf, M.M., Croser, J.S. and Ochatt, S. 2011. Androgenesis and doubled-haploid production in food legumes. En: A. Pratap y J. Kumar (eds) *Biology and breeding of food legumes*. CAB International. pp. 159-177.
- MAPAMA (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente). 2018. <http://www.mapama.gob.es/es/>
- Martín, M., Frías, J., Martínez, C., Peñas, E., Clemente, A., Rupérez, P. and Mateos-Aparicio, I. 2016. Las legumbres y su salud nutricional. En: A. Clemente y A. M. de Ron (eds.), *Las Legumbres*, Editorial Catarata, ISBN 978-84-00-10164-0, Pp 111-123.
- Martins-Salles, S., Machado, V., Massochin-Pinto, L. and Fiuza, L. M. 2017. Genetically modified soybean expressing insecticidal protein (Cry1Ac): Management risk and perspectives. *FACETS* 2:496-512. <https://doi.org/10.1139/facets-2017-0006>

- Meng, Y., Hou, Y., Wang, H., Ji, R., Liu, B., Wen, J., Niu, L. and Lin, H. 2017. Targeted mutagenesis by CRISPR/Cas9 system in the model legume *Medicago truncatula*. *Plant Cell Reports* 36:371-374. <https://doi.org/10.1007/s00299-016-2069-9>
- Miklas, P.N., Kelly, J.D., Beebe, S. E. and Blair, M. W. 2006. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. *Euphytica* 147:105-131.
- Millán, T., Clarke, H.J., Siddique, K.H.M., Buhariwalla, H.K., Gaur, P.M., Kumar, J., Gil, J., Kahl, G. and Winter, P. 2006. Chickpea molecular breeding: new tools and concepts. *Euphytica* 147:81-103.
- Mobini, S. H. and Warkentin, T. D. 2016. A simple and efficient method of *in vivo* rapid generation technology in pea (*Pisum sativum* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 52:530-536.
- Morton, R.L., Schroeder, H.E., Bateman, K.S., Chrispeels, M.J., Armstrong, E. and Higgins, T.J.V. 2000. Bean α -amylase inhibitor 1 in transgenic peas (*Pisum sativum*) provides complete protection from pea weevil (*Bruchus pisorum*) under field conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:3820-3825.
- Muehlbauer, F.J., Cho, S., Sarker, A., McPhee, K.E., Coyne, C.J., Rajesh, P.N. and Ford, R. 2006. Application of biotechnology in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stress. *Euphytica* 147:149-165.
- Ochatt, S. J., Sangwan, R. S., Marget, P., Assoumou Ndong, Y., Rancillac, M., Perney, P. and Röbbelen, G. 2002. New approaches towards the shortening of generation cycles for faster breeding of protein legumes. *Plant Breeding* 121: 436-440. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2002.746803.x>
- Pandey, M. K., Roorkiwal, M., Singh, V. K., Ramalingam, A., Kudapa, H., Thudi, M., Chitiki-
neni, A., Rathore, A. and Varshney, R. K. 2016. Emerging genomic tools for legume breeding: current status and future prospects. *Frontiers in Plant Science* 7:455. doi: 10.3389/fpls.2016.00455.
- Peix, A., Ramírez-Bahena, A. H., Velázquez, E. and Bedmar, E. J. 2015. Bacterial associations with legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34:17-42. doi: 10.1080/07352689.2014.897899.
- Pérez-de-la-Vega, M., Fratini, R.M. and Muehlbauer, F.J. 2011. Lentil. In: M. Pérez-de-la-Vega, A. M. Torres, J.I. Cubero and C. Kole (eds), *Genetics, Genomics and Breeding of Cool Season Grain Legumes*. Science Publishers, Enfield, NH, pp. 98-150. ISBN 978-1-57808-765-5.

- Reckling, M., Bergkvist, G., Watson, C.A., Stoddard, F.L., Zander, P.M., Walker, R.L., Pristeri, A., Toncea, I. and Bachinger, J. 2016. Trade-Offs between economic and environmental impacts of introducing legumes into cropping systems. *Frontiers in Plant Science* 7:669. doi: 10.3389/fpls.2016.00669.
- Romeis, J., Sharma, H.C., Sharma, K.K., Das, S. and Sarmah, B.K. 2004. The potential of transgenic chickpeas for pest control and possible effects on non-target arthropods. *Crop Protection* 23:923-938.
- Rubiales, D. 2017. Developing pest and disease-resistan varieties of grain legumes. En: S. Sivasankar (ed.), *Achieving sustainable cultivation of grain legumes*. Volume 1. Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, UK. ISBN-13: 9781786761361.
- Rubiales, D., Ambrose, M. J., Domoney, C. and Burstin, J. 2011. Pea. In: M. Pérez-de-la-Vega, A.M. Torres, J.I. Cubero and C. Kole (eds), *Genetics, Genomics and Breeding of Cool Season Grain Legumes*. Science Publishers, Enfield, NH, pp. 1-49. ISBN 978-1-57808-765-5
- Rubiales, D., Fernández-Aparicio, M., Moral, A., Barilli, E., Sillero, J.C. and Fondevilla, S. 2009. Disease resistance in pea (*Pisum sativum* L.) types for autumn sowings in Mediterranean environments. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 45:135-142.
- Rubiales, D., Fondevilla, S., Chen, W., Gentzbittel, L., Higgins, T.J.V., Castillejo, M. A., Singh, K.B. and Rispaill, N. 2015. Achievements and challenges in legume breeding for pest and disease resistance. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34:195-236.
- Rubiales, D., Pérez-de-Luque, A., Fernández-Aparicio, M., Sillero, J.C., Román, B., Kharat, M., Khalil, S., Joel D.M. and Riches, Ch. 2006. Screening techniques and sources of resistance against parasitic weeds in grain legumes. *Euphytica* 147:187-199.
- Rubio, J., Gil, J., Cobos, M.J. and Millán, T. 2011. Chickpea. En: M. Pérez-de-la-Vega, A.M. Torres, J.I. Cubero y C. Kole (eds), *Genetics, Genomics and Breeding of Cool Season Grain Legumes*. Science Publishers, Enfield, NH, pp. 205-236. ISBN 978-1-57808-765-5.
- Rubio, L.A. and Molina, E. 2016. Las leguminosas en alimentación animal. *Arbor* 192(779):315.
- Schmutz, J., Cannon, S.B., Schlueter, J., Ma, J., Mitros, T., Nelson, W., Hyten, D.L., Song, Q., Thelen, J.J., Cheng, J., Xu, D., Hellsten, U., May, G.D., Yu, Y., Sakurai, T., Umezawa, T., Bhattacharyya, M. K., Sandhu, D., Valliyodan, B., Lindquist, E., Peto, M., Grant,

- D., Shu, S., Goodstein, D., Barry, K., Futrell-Griggs, M., Abernathy, B., Du, J., Tian, Z., Zhu, L., Gill, N., Joshi, T., Libault, M., Sethuraman, A., Zhang, X., Shinozaki, K., Nguyen, H. T., Wing, R. A., Cregan, P., Specht, J., Grimwood, J., Rokhsar, D., Stacey, G., Shoemaker, R.C. and Jackson, S.A. 2010. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature* 463(7278):178-183. <https://doi.org/10.1038/nature08670>
- Schmutz, J., McClean, P.E., Mamidi, S., Wu, G.A., Cannon, S.B., Grimwood, J., Jenkins, J., Shu, S., Song, Q., Chavarro, C., Torres-Torres, M., Geffroy, V., Moghaddam, S.M., Gao, D., Abernathy, B., Barry, K., Blair, M., Brick, M.A., Chovatia, M., Gepts, P., Goodstein, D.M., Gonzales, M., Hellsten, U., Hyten, D.L., Jia, G., Kelly, J.D., Kudrna, D., Lee, R., Richard, M.M., Miklas, P.N., Osorno, J.M., Rodrigues, J., Thareau, V., Urrea, C.A., Wang, M., Yu, Y., Zhang, M., Wing, R.A., Cregan, P.B., Rokhsar, D.S. and Jackson, S.A. 2014. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nature Genetics* 46:707-713. <https://doi.org/10.1038/ng.3008>
- Sharma, S., Upadhyaya, H.D., Varshney, R.K. and Gowda, C.L.L. 2013. Pre-breeding for diversification of primary gene pool and genetic enhancement of grain legumes. *Frontiers in Plant Science* 4:309. doi: 10.3389/fpls.2013.00309
- Shunmugam, A.S.K., Liu, X., Stonehouse, R., Tar'an, B., Bett, K.E., Sharpe, A.G. and Warkentin, T.D. 2015. Mapping seed phytic acid concentration and iron bioavailability in a pea Recombinant Inbred Line population. *Crop Science* 55: 828. <https://doi.org/10.2135/cropsci2014.08.0544>
- Sillero, J.C., Fondevilla, S., Davidson, J., Vaz Patto, M. C., Warkentin, T.D., Thomas, J. and Rubiales, D. 2006. Screening techniques and sources of resistance to rusts and mildews in grain legumes. *Euphytica* 147:255-272.
- Sillero, J.C., Villegas-Fernández, A.M., Thomas, J., Rojas-Molina, M.M., Emeran, A.A., Fernández-Aparicio, M. and Rubiales, D. 2010. Faba bean breeding for disease resistance. *Field Crops Research* 115:297-307.
- Sindhu, A., Ramsay, L., Sanderson, L.A., Stonehouse, R., Li, R., Condie, J., Shunmugam, A.S.K., Liu, Y., Jha, A.B., Diapari, M., Burstin, J., Aubert, G., Tar'an, B., Bett, K.E., Warkentin, T.D. and Sharpe, A.G. 2014. Gene-based SNP discovery and genetic mapping in pea. *Theoretical and Applied Genetics* 127:2225-2241. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2375-y>
- Smýkal, P., Coyne, C.J., Ambrose, M.J., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M. W., Berger, J., Greene, S.L., Nelson, M.N., Besharat, N., Vymyslický, T., Toker, C., Saxena, R. K., Roorkiwal, M., Pandey, M. K., Hu, J., Li, Y.H., Wang, L.X., Guo, Y., Qiu, L.J., Redden, R.J. and Varshney, R.K. 2015. Legume Crops Phylogeny and Genetic Diversity for

- Science and Breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34:43-104. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.897904>
- Somers, D.A., Samac, D.A. and Olhoft, P.M. 2003. Recent advances in legume transformation. *Plant physiology* 131:892-9. <https://doi.org/10.1104/pp.102.017681>.
- Stoddard, F.L., Nicholas, A.H., Rubiales, D., Thomas, J. and Villegas, A.M. 2010. Integrated pest management in faba bean. *Field Crops Research* 115:308-318.
- Sun, X., Hu, Z., Chen, R., Jiang, Q., Song, G., Zhang, H. and Xi, Y. 2015. Targeted mutagenesis in soybean using the CRISPR-Cas9 system. *Scientific Reports* 5:1-10. <https://doi.org/10.1038/srep10342>
- Tan, G.Z.H., Das Bhowmik, S.S., Hoang, T.M.L., Karbaschi, M.R., Johnson, A.A.T., Williams, B. and Mundree, S.G. 2017. Finger on the pulse: pumping iron into chickpea. *Frontiers in Plant Science* 8:1755. doi: 10.3389/fpls.2017.01755
- Tivoli, B., Baranger, A., Avila, C.M., Banniza, S., Barbetti, M., Chen, W., Davidson, J., Lindeck, K., Kharrat, M., Rubiales, D., Sadiki, M., Sillero, J.C., Sweetingham, M. and Muehlbauer, F.J. 2006. Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. *Euphytica* 147:223-253.
- Torres, A.M., Avila, C.M., Stoddard, F.L. and Cubero, J.I. 2011. Faba bean. En: M. Pérez-de-la-Vega, A.M. Torres, J.I. Cubero y C. Kole (eds), *Genetics, Genomics and Breeding of Cool Season Grain Legumes*. Science Publishers, Enfield, NH, pp. 50-97. ISBN 978-1-57808-765-5.
- Turner, N.C., Wright, G.C. and Siddique, K.H.M. 2001. Adaptation of grain legumes (pulses) to water limited environments. *Advances in Agronomy* 71:193-231.
- Vadez, V., Soltani, A., Krishnamurthy, L. and Sinclair, T.R. 2012. Modelling possible benefit of root related traits to enhance terminal drought adaption of chickpea. *Field Crops Research* 137:108-115.
- Varshney, R.K., Kudapa, H., Pazhamala, L., Chitikineni, A., Thudi, M., Bohra, A., Gaur, P.M., Janila, P., Fikre, A., Kimurto, P. and Ellis, N. 2015. Translational genomics in agriculture: some examples in grain legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34:169-194. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.897909>
- Vaz Patto, M.C. and Rubiales, D. 2014. Lathyrus diversity: Available resources with relevance to crop improvement. *Annals of Botany* 113:895-908.
- Vaz Patto, M.C., Amarowicz, R., Aryee, A.N.A., Boye, J.I., Chung, H.J., Martín-Cabrejas, M.A. and Domoney, C. 2015. Achievements and challenges in improving the nu-



- trititional quality of food legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34:105-143. <http://dx.doi.org/10.1080/07352689.2014.897907>
- Vaz Patto, M.C. 2016. Grain legume protein quality: A hot subject. *Arbor* 192(779):a314. doi: <http://dx.doi.org/10.3989/arbor.2016.779n3004>
- Wally, O. and Punja, Z.K. 2010. Genetic engineering for increasing fungal and bacterial disease resistance in crop plants. *GM Crops* 1:199-206. <https://doi.org/10.4161/gmcr.1.4.13225>.
- Wang, Z.Y. and Brummer, E.C. 2012. Is genetic engineering ever going to take off in forage, turf and bioenergy crop breeding?. *Annals of Botany* 110:1317-1325. doi:10.1093/aob/mcs027,
- Warkentin, T.D., Delgerjava, O., Arganosaa, G., Rehmana, A.U., Betta, K.E., Anbesab, Y., Rosnagela, B. and Raboyc, V. 2012. Development and characterization of low-phytate pea. *Crop Science* 52:74-78. doi:10.2135/cropsci2011.05.0285
- Webb, A., Cottage, A., Wood, T., Khamassi, K., Hobbs, D., Gostkiewicz, K., White, M., Khazaei, H., Ali, M., Street, D., Duc, G., Stoddard, F.L., Maalouf, F., Ogonnaya, F.C., Link, W., Thomas, J. and O'Sullivan, D.M. 2016. A SNP-based consensus genetic map for synteny-based trait targeting in faba bean (*Vicia faba* L.). *Plant Biotechnology Journal* 14:177-185. <https://doi.org/10.1111/pbi.12371>



Capítulo XI.

RETOS DE LA MEJORA DE LOS CULTIVOS DE BRÁSICAS ANTE CONDICIONES DEL CAMBIO CLIMÁTICO

María Tortosa¹, Antonio de Haro-Bailón², María del Carmen Martínez-Ballesta³, Sara Obregón-Cano², Micaela Carvajal³, Elena Cartea^{1*}

- 1 Grupo de Genética, Mejora y Bioquímica de Brásicas. Departamento de Genética Vegetal, Misión Biológica de Galicia, (MBG-CSIC), Apdo. de Correos 28, 36080 Pontevedra
- 2 Departamento de Mejora Vegetal. Instituto de Agricultura Sostenible (IAS-CSIC). Finca Alameda del Obispo s.n. 14004 Córdoba
- 3 Grupo de Aquaporinas. Departamento de Nutrición Vegetal, Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC), Campus Universitario de Espinardo, Apdo. de Correos 164, 30100 Murcia, Spain

*Coordinador: ecarte@mbg.csic.es

CONTENIDO:

1. Introducción
 - 1.1. Las Crucíferas
 - 1.2. El género Brassica
 - 1.3. Especies silvestres y géneros afines





2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro
3. Objetivos de mejora
 - 3.1. Estrés biótico - Incidencia del cambio climático sobre las condiciones de estrés biótico que afectan a las brásicas
 - 3.2. Estrés abiótico - Incidencia del cambio climático sobre las condiciones de estrés abiótico que afectan a las brásicas
 - 3.3. Calidad
4. Biotecnología en la mejora genética de plantas
5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética
6. Bibliografía

Capítulo XI.

RETOS DE LA MEJORA DE LOS CULTIVOS DE BRÁSICAS ANTE CONDICIONES DEL CAMBIO CLIMÁTICO

1. Introducción

1.1. LAS CRUCÍFERAS

La familia *Cruciferae* (= *Brassicaceae*) es un grupo monofilético formado por alrededor de 35 tribus, 338 géneros y 3709 especies (Warwick et al., 2006). Si bien estas especies se distribuyen principalmente por las regiones templadas del hemisferio norte, hoy en día estos cultivos se cultivan en todo el mundo bajo una amplia gama de condiciones climáticas. Esta familia incluye cultivos de gran importancia económica, ya sea para el consumo, forraje, condimentos o producción de aceites.

Sin embargo, su importancia no solo reside en su interés agrícola o industrial, sino que distintas especies de los géneros *Arabidopsis* y *Brassica* se utilizan como plantas modelo en biología molecular, lo que ha supuesto un notorio avance en diferentes campos y aplicaciones de la biología vegetal. Por citar solo algunos ejemplos de cultivos representativos de esta familia, encontramos a *Brassica juncea* y *Brassica napus*, (cultivos oleaginosos), *Brassica oleracea*, *Brassica rapa*, *B. napus* y *Raphanus sativus* (hortícolas) o *Arabidopsis thaliana* (como planta modelo) (Figura 1).

1.2. EL GÉNERO BRASSICA

Dentro de la familia *Brassicaceae*, el género *Brassica* es el más importante económicamente hablando ya que comprende un gran número de cultivos con una elevada importancia en su explotación agronómica y con una gran diversidad de características biológicas. Esta diversidad se explica principalmente por los distintos procesos de domesticación y selección natural a los que fueron sometidos, e incluso a distintas introgresiones de material genético desde las especies silvestres (Prakash e Hinata,

1980). Su gran distribución mundial se atribuye a su adaptación a un amplio rango de condiciones climáticas. Aunque en general los cultivos pertenecientes a este género se desarrollan óptimamente en regiones templadas o subtropicales, se consideran resistentes a las heladas y altamente resistentes a las sequías. Las especies de este género pueden ser consideradas como uno de los primeros grupos de plantas domesticadas por el hombre. La domesticación de estas especies ocurrió en diferentes épocas y lugares. Desde entonces el hombre ha sido capaz de modificar casi todas las partes de la planta con vistas a su utilización en alimentación humana y animal (hortícola, oleo-proteaginoso, condimentaria, forraje) y en la industria (lubricante, combustible, plásticos).

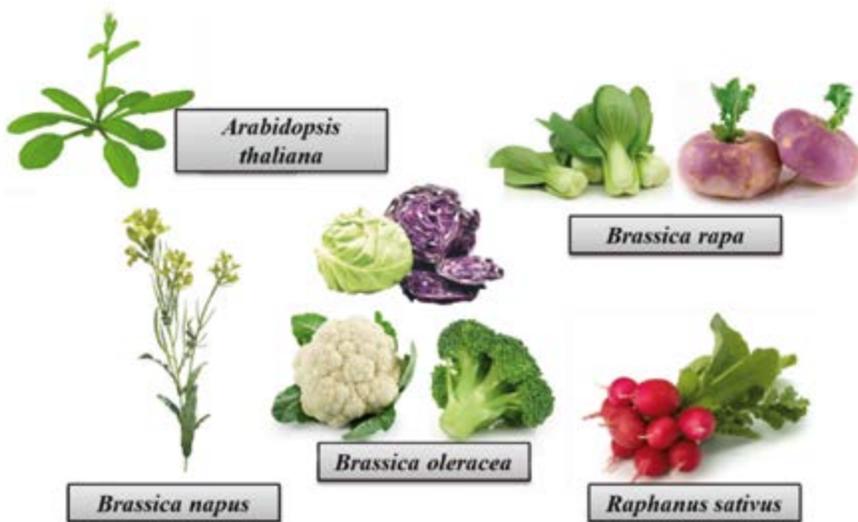


Figura 1. Algunos de los miembros de mayor importancia dentro de la familia Brassicaceae.

Actualmente este género está formado por 37 especies, de las cuales exclusivamente seis de ellas tienen un aprovechamiento agrícola destacado. El famoso triángulo de U (Figura 2), establecido en 1935, explica las relaciones filogenéticas existentes entre estas seis importantes especies basándose en estudios citológicos y en la relación entre sus genomas. Brevemente, mientras que en los vértices del triángulo se disponen las tres especies diploides, *B. rapa* (A), *B. nigra* (B) y *B. oleracea* (C), los laterales son ocupados por las especies anfidiploides, *B. juncea* (AB), *B. napus* (AC) y *B. carinata* (BC). La composición de sus genomas determina la autoincompatibilidad sexual; la mayoría de las especies de brásicas diploides son predominantemente alógamas, mientras que las anfidiploides son fundamentalmente autógamas (Soengas et al., 2011).

Los usos de las brásicas son tan variables como sus formas y productos. De entre las seis especies de brásicas con mayor impacto económico, *B. oleracea* y *B. rapa* son las que engloban la mayoría de los cultivos hortícolas. En el primer caso, encontramos cultivos tan presentes en nuestra dieta como el repollo, el brécol, la coliflor y las coles de Bruselas, y en el caso de *B. rapa*, se agrupan formas hortícolas como el nabo, la col china y pak-choi. Sin embargo, no hay que olvidar la importancia de los cultivos oleaginosos, como es el caso de la colza (*B. napus*). El resto de las especies, *Brassica nigra*, *Brassica carinata* y *Brassica juncea*, se agrupan en el denominado grupo de las mostazas por el uso de sus semillas para la producción de condimentos y aceites.

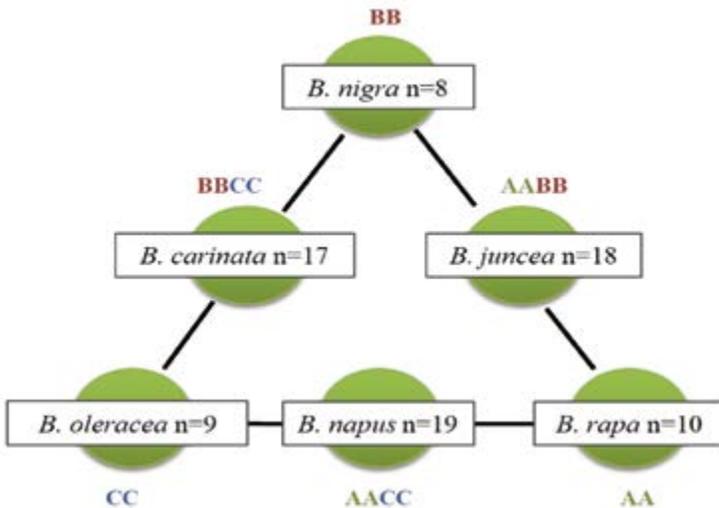


Figura 2. Triangulo de U con las especies del género *Brassica* más importantes. Las letras hacen referencia al tipo de genoma y la 'n' al número de cromosomas presentes en dicho genoma.

1.3. ESPECIES SILVESTRES Y GÉNEROS AFINES

La comprensión del potencial genético de las especies silvestres emparentadas con los cultivos mayoritarios de brásicas, así como de otros géneros afines (miembros de la tribu *Brassicaceae*) es una herramienta imprescindible para llevar a cabo programas de mejora efectivos. Entre las características agronómicas que poseen estos parientes silvestres y que son interesantes para su inclusión en programas de mejora, se puede citar la androesterilidad citoplasmática, la resistencia a plagas y enfermedades, o la tolerancia a condiciones climáticas extremas, como son las altas temperaturas, la sequía o las heladas (Branca y Cartea, 2011).

Además, en los últimos años ha surgido un interés creciente y se ha incrementado el uso de otras especies dentro de la tribu *Brassicaceae* por sus excelentes propiedades beneficiosas para la salud. Como ejemplos, cabe citar los cultivos pertenecientes a los géneros *Raphanus* (rábano), *Nasturtium* (berros) o *Eruca* (rúcula), utilizados como hortícolas y aquellos usados para la producción de aceites industriales (géneros *Crambe* o *Eruca*), o como condimento (*Sinapis alba*-la mostaza blanca), entre otros.

2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro

Los dos grandes desafíos para la seguridad alimentaria mundial son la demanda creciente de alimentos y la adaptación de los cultivos al cambio climático. Entre las principales causas antropogénicas que contribuyen al cambio climático se encuentran el incremento en los gases de efecto invernadero de la atmósfera, principalmente dióxido de carbono (CO_2), la deforestación y la agricultura. La agricultura constituye al mismo tiempo un sumidero y una fuente de emisión de gases de efecto invernadero atmosféricos tales como el CO_2 , metano (CH_4) y óxido nitroso (N_2O). Así, las plantas pueden capturar CO_2 de la atmósfera y emitirlo a la misma a través de la oxidación de la materia orgánica del suelo y mediante el uso de energía fósil. En el caso particular de las brásicas, éstas requieren grandes cantidades de fertilizantes nitrogenados para su óptimo desarrollo y, por tanto, su consumo energético es mayor comparado con otros cultivos como, por ejemplo, los cereales. Se ha demostrado que la descomposición de algunos cultivos de brásicas, como la coliflor emite altas concentraciones de N_2O y amoníaco (NH_3), como consecuencia de su alto contenido en nutrientes y agua, si bien esta emisión depende del tipo del suelo y de las prácticas de manejo de estos residuos vegetales (Net et al., 2016). Por ello, uno de los objetivos en los cultivos de brásicas para reducir las emisiones de gases de efecto invernadero debería centrarse en el aprovechamiento de los residuos.

La tolerancia a estreses bióticos y abióticos involucra respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, que permiten mantener procesos como la respiración, la fotosíntesis y el transporte de nutrientes. El cambio climático restringirá la disponibilidad de los recursos y alterará las condiciones vitales para el crecimiento y el rendimiento de los cultivos, promoviendo así los cambios inducidos por el medio ambiente en los fenotipos. Además del aumento de la temperatura y de CO_2 , en un contexto de calentamiento global, se producirán cambios importantes en los patrones de precipitación que llevarán al déficit hídrico del suelo, particularmente en aquellas regiones



áridas y semiáridas. Por todo ello, aunque se ha aceptado de forma general que un aumento del CO_2 puede tener un efecto beneficioso en las plantas, es preciso tener en cuenta el efecto conjunto de dosis elevadas de CO_2 con otros factores ambientales como la temperatura, humedad, nutrientes, competencia planta-planta, plagas y enfermedades. Ante estas circunstancias, el estudio de las distintas respuestas de los cultivos de brásicas para afrontar condiciones ambientales adversas se ha convertido en un desafío importante, no sólo para conocer los mecanismos de adaptación de las plantas a entornos desfavorables, sino también para lograr una reducción de emisiones de gases de efecto invernadero. En consecuencia, los futuros programas de mejora deberán tener en cuenta las interacciones entre los factores individuales de cambio climático y la forma en que éstos interfieren con la productividad y la calidad.

3. Objetivos de mejora

La mejora genética vegetal tiene como principal objetivo el desarrollo de nuevas variedades con características que presenten ventajas frente a las previamente existentes. Estas ventajas pueden ser de diversa naturaleza, como es el aumento de la producción, la adaptación a las demandas actuales del mercado, la resistencia a plagas y enfermedades o la adaptación a condiciones ambientales adversas. En las últimas décadas se ha producido un cambio en los criterios de selección utilizados por los mejoradores en los cultivos de brásicas. El rendimiento hortícola, que había sido el objetivo principal de los programas de mejora en cultivos hortícolas como la coliflor, repollo y brécol, o el rendimiento de aceite de semilla en el caso de cultivos oleaginosos como la colza, fueron desplazados por otras características como la uniformidad de los cultivos, el tamaño de las pellas y la calidad nutricional, en consonancia con las nuevas tendencias y estilo de vida de la sociedad actual. Sin embargo, la mejora de la resistencia a estreses bióticos y abióticos en estos cultivos ha sido menos relevante a pesar de su gran susceptibilidad a diferentes plagas y enfermedades, además de su falta de adaptación a condiciones ambientales desfavorables que afectan adversamente su crecimiento, desarrollo y producción.

En el contexto del cambio climático, es interesante señalar que un aumento de la concentración atmosférica de CO_2 podría favorecer *'a priori'* el crecimiento y la producción vegetal al mejorar la eficiencia del proceso de fotosíntesis, pero la elevación conjunta del CO_2 y la temperatura podría alterar profundamente el abanico de plagas y enfermedades aumentando su efecto adverso sobre las plantas cultivadas. Por otra

parte, es evidente que necesitaremos variedades cultivadas más resistentes al estrés abiótico para gestionar las transiciones climáticas; es decir, plantas más tolerantes a la sequía, a las temperaturas extremas y a la salinidad y acidez del suelo, objetivos sobre los que se han realizado ya avances notables en cultivos como el brécol, coliflor o el repollo.

3.1. ESTRESSES BIÓTICOS - INCIDENCIA DEL CAMBIO CLIMÁTICO SOBRE LAS CONDICIONES DE ESTRÉS BIÓTICO QUE AFECTAN A LAS BRÁSICAS

Uno de los factores limitantes de la producción agrícola de los cultivos de brásicas a nivel mundial es su gran susceptibilidad frente a numerosas plagas y enfermedades. A pesar de su importancia, hay pocos estudios sobre el impacto del cambio climático sobre las plagas y enfermedades en estos cultivos. El aumento de la temperatura, la reducción de los recursos hídricos y el incremento de CO₂ pueden incidir en la dispersión de insectos o plagas exóticas, promoviendo la aparición de nuevas plagas en áreas de cultivo donde hasta el momento no se habían detectado. Otros efectos del cambio climático, además de la aparición de nuevas plagas, son la reducción de poblaciones de insectos beneficiosos que actúan como reguladores naturales, la manifestación de plagas ocasionales como habituales, el incremento y/o reducción de plagas habituales y cambios en la dinámica de las plagas aumentando, por ejemplo, el número de generaciones anuales.

3.1.1. Plagas

Se pueden señalar como agentes perjudiciales que atacan los cultivos de brásicas en Europa insectos lepidópteros como la mariposa de la col (*Pieris* sp.), dípteros como la mosca de la col (*Delia radicum*), homópteros como la mosca blanca de la col (*Aleyrodes brassicae*) o el pulgón (*Brevicoryne brassicae*), hemípteros como la chinche roja de las crucíferas (*Eurydema ornatum*), coleópteros como la falsa potra (*Phyllotreta cruciferae*), además de caracoles y pájaros (Kirk, 1992; Cartea et al., 2010). En la Tabla 1 se presentan las principales plagas de insectos que atacan los cultivos de brásicas, así como su distribución geográfica. Los insectos lepidópteros son las plagas que causan los mayores daños tanto en Europa como en América. En Europa predomina por su importancia e incidencia la mariposa de la col que engloba las especies *Pieris rapae* y *Pieris brassicae*, la oruga nocturna de la col o *Mamestra brassicae*, la polilla de las crucíferas o *Plutella xylostella* y la mariposa gamma o *Autographa gamma*. En América, las principales especies de lepidópteros son *Mamestra configurata*, *Pieris rapae*, *Plutella xylostella* y *Trichoplusia ni*. Estos insectos presentan, en general, dos generaciones anuales y una

gran capacidad de adaptación a diversas condiciones geográficas. Todas ellas son herbívoras, perforan las hojas de las que se alimentan dejando el producto inservible para su comercialización.

Tabla 1. Principales plagas de insectos que atacan los cultivos de brásicas (basado en Kirk, 1992; Cartea et al., 2010).

Nombre común	Nombre científico	Familia	Distribución
Orden Lepidoptera			
Oruga nocturna de la col	<i>Mamestra brassicae</i>	Noctuidae	Europa y Asia
Mariposa de la col	<i>Pieris rapae</i>	Pieridae	Mundial
Mariposa de la col	<i>Pieris brassicae</i>	Pieridae	Europa y Asia
Polilla de las crucíferas	<i>Plutella xylostella</i>	Plutellidae	Mundial
Plusia, oruga medidora	<i>Autographa gamma</i>	Noctuidae	Mundial
“Bertha armyworm”	<i>Mamestra configurata</i>	Noctuidae	Norte América
Piral de las coles	<i>Evergestis forficalis</i>	Pyralidae	Europa
Gusano medidor del repollo	<i>Trichoplusia ni</i>	Noctuidae	América y Europa
Noctua de las hortalizas	<i>Lacanobia oleracea</i>	Noctuidae	Europa y Asia
Orden Diptera			
Mosca de la col	<i>Delia radicum</i>	Anthomyidae	América y Europa
Orden Homoptera			
Pulgón ceroso de las crucíferas	<i>Brevicoryne brassicae</i>	Aphididae	Mundial
Mosca blanca de la col	<i>Aleyrodes brassicae</i>	Aleyrodidae	Sur EEUU y Europa
Orden Hemiptera			
Chinche roja de las crucíferas	<i>Eurydema ornatum</i> , <i>E. oleraceum</i>	Pentatomidae	Mundial
Orden Coleoptera			
Pulguilla de las crucíferas	<i>Phyllotreta cruciferae</i> , <i>Psylliodes</i> spp.	Chrysomelidae	Mundial
Falsa potra de las crucíferas	<i>Ceuthorrhynchus pleurostigma</i>	Curculionidae	Mundial

Como se ha comentado previamente, las altas temperaturas y la ausencia de precipitaciones influyen directamente en la dinámica de poblaciones, incrementando la tasa de reproducción y la sobrevivencia de los insectos. Algunos estudios han demostrado, que bajo condiciones de sequía las plagas que más se ven favorecidas son aquellas denominadas invasoras. Se ha confirmado que insectos pertenecientes al orden Hemipte-

ra y Thysanoptera, tales como los chinches y trips, son los más beneficiados bajo estas condiciones, puesto que el aumento en la temperatura favorece su tasa reproductiva. Reddy et al. (2004) observaron una tasa de crecimiento larvario negativa en condiciones de elevado CO_2 en *P. xylostella* y Bezemer (1998) estudió el impacto de alto CO_2 en el desarrollo de dos especies de áfidos, observando un comportamiento variable en función de la especie. Por ello, es necesario realizar estudios de monitorización de las plagas para conocer su dinámica e incidencia, así como identificar nuevas plagas con el objetivo de realizar aplicaciones fitosanitarias y romper los ciclos de vida del insecto. Las plagas que atacan las brásicas son erráticas y fluctúan con las condiciones ambientales. Con este fin, desde el año 2001 el grupo de Brásicas de la MBG está llevando a cabo un seguimiento de las plagas de lepidópteros que afectan los cultivos de brásicas mediante el uso de trampas de feromonas sexuales y la realización de muestreos periódicos de plantas en parcelas experimentales. Las trampas de feromonas sexuales permiten conocer el número de generaciones anuales de las principales especies de lepidópteros mientras que los muestreos periódicos de larvas en campo permiten además conocer la abundancia relativa de cada especie y determinar la evolución de los daños causados por cada una de ellas (Cartea et al., 2009). Fruto de estos trabajos se ha podido identificar a las principales plagas de lepidópteros que afectan a los cultivos de brásicas, las cuales pertenecen a cinco especies: *M. brassicae*, *P. xylostella*, *P. rapae*, *P. brassicae* y *A. gamma*. Entre ellas, *M. brassicae* puede considerarse como la principal especie causante de los daños, seguida de *P. rapae* y *P. xylostella*, si bien todas ellas presentan una gran variabilidad interanual y entre localidades, debido a diferentes factores ambientales, a los que se puede sumar la distribución espacial y temporal de los enemigos naturales.

3.1.2. Enfermedades

Por otra parte, las brásicas se ven afectadas por una serie de enfermedades que hacen que merme su producción y disminuya su calidad. Las enfermedades consideradas como las más importantes de las brásicas a nivel mundial son la podredumbre negra, causada por la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson, la potra o hernia de la col, causada por el hongo *Plasmodiophora brassicae* Wor, la podredumbre gris, conocida como botrytis y causada por el hongo *Botrytis cinerea* (Pers.): Fr. y el oídio, causado por el hongo *Erysiphe polygoni* (DC.). En la Tabla 2 se presentan las principales enfermedades que atacan los cultivos de brásicas, así como su distribución geográfica. El control de las enfermedades se realiza mediante medidas culturales, el uso de fitoquímicos y la utilización de variedades resistentes. Entre las variedades locales que se cultivan en una zona, es posible encontrar variedades resistentes o tole-

rantes a las enfermedades más importantes de esa área, simplemente por selección natural de genotipos resistentes a lo largo de generaciones. La colección de brásicas mantenida en la MBG constituye un reservorio de genes interesante como fuentes de resistencia a las principales enfermedades de las brásicas cultivadas y, por tanto, un material de partida útil para programas de mejora (Lema et al., 2012).

Aunque las condiciones climáticas extremas son un factor determinante, no se ha demostrado una relación lineal entre temperatura y sequía con la aparición de nuevas enfermedades, por lo que resulta *a priori* complicado predecir el impacto del cambio climático en la incidencia de las enfermedades. El incremento previsto de la temperatura en un futuro en combinación con otros factores de cambio climático, aumentará no solo la incidencia y los síntomas de las enfermedades, sino también su rango de distribución mundial y la respuesta de la planta huésped provocando que la resistencia del huésped sea menos efectiva.

Tabla 2. Principales enfermedades que atacan los cultivos de brásicas
(basado en Tewari y Mithen, 1999; Cartea et al., 2010).

Nombre común	Nombre científico	Distribución
Bacterianas		
Agallas o tumores del cuello	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Mundial
Enfermedades bacterianas de las hojas	<i>Pseudomonas</i> spp., <i>Erwinia</i> sp.	Mundial
Podredumbre negra	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	Mundial
Mancha foliar	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>armoraciae</i>	Mundial
Fúngicas		
Roya blanca	<i>Albugo candida</i>	Mundial
Mancha negra	<i>Alternaria brassicae</i> , <i>A. brassicicola</i>	Mundial
Botrytis o podredumbre gris	<i>Botrytis cinerea</i>	Mundial
Oidio	<i>Erysiphe</i> spp.	Mundial
Fusariosis amarilla	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F.conglutinans</i>	América, Europa
Pierna negra o “blackleg”	<i>Leptosphaeria maculans</i>	Mundial
Mancha angular	<i>Mycosphaerella brassicicola</i>	Mundial
Mildiu	<i>Peronospora parasitica</i> , <i>P.brassicae</i>	Mundial
Potra o hernia de la col	<i>Plasmodiophora brassicae</i>	Mundial
“White spot”	<i>Pseudocercospora capsellae</i>	Mundial

Nombre común	Nombre científico	Distribución
Hongos del cuello o pie negro	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Phoma lingam</i>	Mundial
Podredumbre del tallo	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Mundial
Virosis	Familia	
Virus del mosaico de la coliflor	<i>Caulimoviridae</i>	Regiones templadas
Virus del mosaico del nabo	<i>Potyviridae</i>	Mundial
Virus del amarilleo de la remolacha	<i>Luteoviridae</i>	Regiones templadas
Virus del mosaico amarillo del nabo	<i>Tymoviridae</i>	Europa, Australia
“Turnip crinckle”	<i>Tombusviridae</i>	Mundial
Nematodos		
Nematodo del quiste de la col	<i>Heteroderidae</i>	Europa, USA, Asia
Nematodo de la raíz	<i>Meloidogynidae</i>	Mundial
Nematodo de las lesiones	<i>Pratylenchidae</i>	Mundial

3.2. ESTRÉS ABIÓTICO - INCIDENCIA DEL CAMBIO CLIMÁTICO SOBRE LAS CONDICIONES DE ESTRÉS ABIÓTICO QUE AFECTAN A LAS BRÁSICAS

3.2.1. Condiciones de alta temperatura

Diferentes estudios han comprobado que una combinación de alta concentración de CO₂ junto con una elevada temperatura del aire en la atmósfera puede tener un efecto desfavorable en los cultivos de brásicas. Así, los trabajos de Lee et al. (2009, 2016) demostraron que, bajo estas condiciones, las hojas de la col kimchi y las de rábano sufrían modificaciones en su anatomía, y, en consecuencia, cambios adversos en los parámetros de intercambio gaseoso foliares. No sólo el crecimiento vegetativo sino también la etapa reproductiva se puede ver afectada por un aumento de CO₂ y temperatura. Así, en colza se ha visto que el rendimiento de semilla se redujo aproximadamente un 50% bajo condiciones de alta temperatura y CO₂ en comparación con las condiciones ambientales favorables. Aunque se ha descrito una tolerancia diferente al estrés térmico dependiendo de la especie (Choi et al., 2011; Oh et al, 2015, Rodríguez y otros, 2015), puede afirmarse que, en líneas generales, las altas temperaturas producen un aumento de la tasa de transpiración y una disminución de la eficiencia fotosintética, lo cual conlleva a una disminución del uso eficiente del agua.

3.2.2 Condiciones de sequía: eficiencia en el uso del agua

Además del aumento de la temperatura y CO₂, en un contexto de calentamiento global, la sequía supone también un factor interrelacionado que puede condicionar el crecimiento y la supervivencia de los cultivos de brásicas. La disponibilidad de



agua es el factor más limitante para la productividad de los cultivos y ante la escasez prevista debido al cambio climático, el uso eficiente del agua (WUE) se convierte en un parámetro clave y multifactorial como una oportunidad para mejorar los rendimientos de los cultivos. El WUE, definido como el carbono asimilado por unidad de agua gastada, debe implicar una distribución eficiente del carbono en la planta madura. Para ello, en condiciones limitantes de aporte hídrico, las plantas deben fijar el carbono con la máxima eficiencia y evitar la transpiración excesiva, al mismo tiempo que deben maximizar la captación de agua del suelo. Se sabe que el aumento del CO_2 atmosférico normalmente aumenta el crecimiento de la planta al mejorar la fotosíntesis incrementando el WUE como consecuencia del cierre parcial de los estomas (Mishra et al., 1999).

Se han atribuido diferentes mecanismos a la capacidad de los cultivos de brásicas para hacer frente al estrés hídrico bajo alta concentración de CO_2 . Entre ellos se encuentran una mayor osmorregulación o una alta capacidad fotosintética (Mishra et al., 1999). Además, se ha observado que un nivel elevado de CO_2 puede mejorar los efectos adversos de la sequía en plantas de *B. juncea* a través de cambios anatómicos en las hojas. Estas funciones no siempre son óptimas y las estrategias para hacer frente al estrés hídrico como el ajuste osmótico resultan en una reducción del crecimiento de la planta. Palmer et al. (2012) demostraron que la producción de osmolitos en brásicas responsables de este proceso de ajuste osmótico depende del genotipo. Además, esta variabilidad genética natural puede usarse para seleccionar germoplasma e identificar los genotipos más adaptados. En *B. rapa*, se encontraron diferencias entre variedades en la respuesta del WUE a condiciones de sequía, de modo que los genotipos con mayor incremento en el WUE tuvieron el mayor índice de biomasa (Edwards et al., 2012) y los convierte en genotipos útiles para los programas de mejora. Características anatómicas (estomáticas, del tejido vascular o del mesófilo), pueden influir también en la resistencia a la pérdida de agua a través del proceso de transpiración (Vogg et al., 2004) de modo que se han propuesto varias estrategias para mejorar el WUE en la planta, a partir del estudio de la composición de ceras cuticulares, el control de la conductancia estomática (g_s), la capacidad fotosintética intrínseca del cloroplasto o el aumento de la conductancia del mesófilo (g_m) (Gago et al., 2014). En este caso de la conductancia del mesófilo, es importante tener en cuenta el control por las acuaporinas, que pueden regular el intercambio de CO_2 en el cloroplasto, la conductancia hidráulica de las hojas y la respuesta a la sequía (Lu et al., 2016).

3.2.2. Condiciones de salinidad

La salinidad es uno de los factores limitantes más importantes para la producción de los cultivos. Bajo una atmósfera de CO_2 incrementada, el efecto adverso del estrés salino en la fotosíntesis puede compensarse mediante ajustes osmóticos más altos o una recuperación de las relaciones hídricas (Zaghdoud et al., 2013; 2016) con la subsecuente compensación del rendimiento perdido y la mejora de la tolerancia a la salinidad del cultivo. Sin embargo, aunque algunos estudios se han centrado en los mecanismos de adaptación a la combinación de salinidad y elevado CO_2 para diferentes especies, pocos estudios han considerado las propiedades relacionadas con la calidad del cultivo y su capacidad antioxidante. Este hecho es de particular importancia en el caso de las especies de brásicas, donde los glucosinolatos (GS), compuestos bioactivos nitroso-azufrados derivados del metabolismo secundario, están involucrados en el sistema de defensa de la planta contra factores de estrés biótico.

El efecto beneficioso del elevado CO_2 sobre el metabolismo del azufre se describió en dos variedades de brécol cuando las plantas se cultivaron bajo estrés salino, señalando la importancia del genotipo en la respuesta (Rodríguez-Hernández et al., 2014). Mientras que en la variedad 'Naxos' se observó un aumento del metabolismo del azufre inducido por CO_2 para favorecer una respuesta antioxidante con la formación de glutatión, en la variedad 'Viola', el metabolismo del azufre promovió significativamente un aumento de los GS alifáticos. Así, el control de las enzimas involucradas en el metabolismo del azufre puede resultar una herramienta eficaz para la planta para regular el cruce de respuestas entre el estrés abiótico y biótico en condiciones de contenidos elevados de CO_2 . Otra consideración importante para los cultivos de brásicas en la interacción entre la salinidad del suelo combinada con futuras concentraciones de CO_2 , será su capacidad de adquisición de nutrientes y los requisitos de fertilización, especialmente de fertilización nitrogenada, ya que en el caso de las brásicas este tipo de fertilización está considerada como uno de los factores más importantes para su producción y consumo.

3.2.3. Condiciones de deficiencia o exceso de nutrientes

El incremento de los periodos de escasez de agua y la necesidad de una reducción del uso de fertilizantes para una agricultura sostenible, hace imprescindible mejorar tanto la tolerancia a la deshidratación como la eficiencia en el uso de nutrientes. La eficiencia en el uso de nutrientes (NUE) se ha considerado como la capacidad del cultivo para absorber y utilizar los nutrientes bajo diferentes condiciones ambientales. Puede



expresarse como la biomasa o el rendimiento producido por unidad de un nutriente particular disponible para la planta. En los últimos años el cambio climático ha agravado el desequilibrio de nutrientes en las plantas, especialmente en nitrógeno, fósforo y potasio, mientras que también se ha observado una deficiencia de los micronutrientes en suelos. Estos cambios han influido en la fisiología y morfología de la raíz, así como en los mecanismos moleculares de absorción de nutrientes por parte de la planta.

De manera similar al WUE, el NUE está influenciado por las características anatómicas de las raíces y este parámetro podría ser un criterio válido para la selección de genotipos óptimos que aumenten el NUE en futuros programas de mejora. En *B. napus* se ha descrito que una disminución de la capacidad de secuestrar nitrógeno en las vacuolas de la raíz fue decisiva para mejorar su transporte a la parte aérea aumentando el NUE (Han et al., 2016). Además, en esta misma especie se han observado diferencias anatómicas foliares que condicionan la conductancia del mesófilo y la fotosíntesis bajo deficiencia de potasio la cual aumentó la distancia entre la pared celular y el cloroplasto incrementando la resistencia a la difusión de CO_2 (Lu et al., 2016). Se han realizado diferentes estudios para explorar la variación genética para el NUE en brásicas. Esto es de particular importancia en las crucíferas oleaginosas, como la colza, ampliamente cultivada en todo el mundo, que presentan una baja eficiencia del uso de nitrógeno debido a la escasa movilización de este elemento (Bouchet et al., 2016). Además, en estas formas oleaginosas, el NUE está condicionado por la tasa, fuente y método de aplicación de fertilizantes nitrogenados, con importantes consecuencias en las propiedades de las semillas y la calidad del aceite. En diferentes estudios con variedades de mostazas, repollo blanco y col rizada se ha demostrado además que el uso eficiente de nutrientes (NUE) y, en particular la eficiencia de azufre y nitrógeno, puede mejorar con un manejo agrícola apropiado, teniendo en cuenta las propiedades del suelo y los momentos óptimos de incorporación de nutrientes (Rathore et al., 2014).

3.3. CALIDAD

La calidad de las brásicas, y la variedad de usos de sus productos está relacionada principalmente con dos componentes característicos de este grupo de especies: los GS presentes en todas las partes de la planta, y los ácidos grasos (en particular el ácido erúxico) presente en el aceite de las semillas (Rosa, 1999). Resulta evidente que conocimiento del impacto del cambio climático, en particular el aumento de la temperatura, el estrés hídrico, cambio en regímenes de lluvia y el aumento de los niveles de CO_2 sobre los órganos cosechables y sobre los compuestos responsables del componente de

la calidad objeto de estudio, ayudará a desarrollar los objetivos y programas de mejora adecuados para cada especie de brásicas considerada.

3.3.1. Rendimiento y calidad oleo-proteaginoso. Aceite y ácidos grasos.

Las semillas de las distintas especies de brásicas tienen entre el 38 y el 44% de aceite, siendo el aumento del contenido en aceite de la semilla uno de los objetivos principales en la mejora de estas especies, ya que alrededor del 80% del valor de la semilla es debido al aceite y el 20% restante a la harina desengrasada residual. La harina residual (torta proteica), de gran utilidad en alimentación animal contiene del 38 al 46% de proteína, con una composición de aminoácidos esenciales muy equilibrada, superior a la proteína de otras oleaginosas y a la de los cereales. Los lípidos más abundantes en las semillas de las brásicas son los triglicéridos que se acumulan como productos de reserva y constituyen la fuente comercial de aceite. Las propiedades físicas, químicas y nutricionales del aceite dependen de su composición en ácidos grasos y de la situación de éstos en el triglicérido.

Con vistas a satisfacer la creciente demanda de aceites vegetales para uso alimentario e industrial es necesario establecer las condiciones que permitan optimizar la producción de aceite en la semilla y conseguir aceites con la composición de ácidos grasos adecuada al uso alimentario o no alimentario al que se destine en un escenario de cambio climático. Las condiciones de estrés y las precipitaciones erráticas pueden reducir la duración de receptividad del estigma y la visita de los polinizadores con consecuencias negativas para producción de semillas (Maity y Pramanik, 2013), así como la germinación en la vaina de granos fisiológicamente maduros (Maity et al., 2016). Dependiendo de las condiciones edafoclimáticas será necesario seleccionar las especies de brásicas a cultivar dando preferencia a las que sean más tolerantes al estrés hídrico y a las que sean más productivas en condiciones de ausencia de polinizadores. Estudios agronómicos realizados en nuestro país a partir de los años 80 han puesto de manifiesto la excelente adaptación de *B. carinata* a las condiciones de estrés hídrico del secano andaluz, con rendimientos en semilla y aceite superiores a los de *B. juncea* y *B. napus* (Fereres et al., 1983). Se ha comprobado que los factores ambientales que modifican el contenido en aceite, así como su contenido en ácidos grasos en la semilla, actúan en sentido contrario sobre el contenido en proteína. En general, el aumento de temperatura durante la formación de las semillas aumenta el contenido en proteína y disminuye el contenido total de aceite, posiblemente debido a un aumento en la biodisponibilidad del nitrógeno. El aumento de la temperatura también influye en la



biosíntesis de ácidos grasos disminuyendo la actividad de las enzimas desaturadas, lo que provoca el aumento de la concentración de ácido oleico y la disminución de las concentraciones de los ácidos linoleico y linolénico. Por otro lado, en variedades de *B. napus* se ha observado que la síntesis de ácido erúcico a partir de la elongación del ácido oleico se ve favorecida en condiciones de baja temperatura (Schulte et al., 2013).

3.3.2. Calidad hortícola-Glucosinolatos.

Los cultivos hortícolas de brásicas comparten con otros productos hortícolas propiedades nutricionales tales como un bajo contenido en grasas y proteína, junto con un alto contenido en agua, fibras, minerales y oligoelementos, destacando en particular por su alto contenido en potasio, calcio y magnesio (Obregon, 2016). Lo que diferencia a las brásicas de otros productos hortícolas, y es el componente fundamental de su calidad organoléptica y nutracéutica, es su contenido en GS. Son productos del metabolismo secundario y, en función del aminoácido del que derivan, se pueden clasificar en alifáticos (derivados de la metionina), indólicos (derivados del triptófano) y aromáticos (derivados de la fenilalanina). Este grupo de fitoquímicos se presentan exclusivamente en plantas del orden *Capparales* y son particularmente abundantes en la familia *Brassicaceae*, desempeñando un papel importante en el sistema de defensa de la planta y como fuente de azufre.

Hay que señalar que existe una gran variabilidad tanto en el contenido total como en el perfil de GS entre las distintas especies de brásicas, variando en función del estado fenológico de la planta. También se han encontrado diferencias en el contenido en GS entre distintos genotipos de la misma especie, así como la existencia de diferencias en las proporciones relativas de los distintos GS en los distintos tejidos de la misma planta (Cartea y Velasco, 2008). Los productos resultantes de la hidrólisis de los GS (isotiocianatos) son los responsables de las propiedades organolépticas, nutritivas y medicinales de las plantas que los producen, así como de la utilización de este grupo de especies por el hombre y los animales. Los isotiocianatos tienen un efecto destacado sobre la palatabilidad del producto por el sabor amostazado y picante que proporcionan, actúan como repelentes para determinados insectos y como atrayentes para otros (Giamoustaris y Mithen, 1995). También se han demostrado las propiedades antifúngicas y antibacterianas de los isotiocianatos (Ríos et al., 2016). En cuanto a salud humana, a mediados de los 90, el Dr. Talalay y su grupo en el John Hopkins pusieron en evidencia la asociación entre el consumo de brásicas y la reducción de la incidencia del cáncer en los humanos (Talalay y Zhang, 1996). También se ha demostrado

el efecto quimiopreventivo de diferentes especies de brásicas debido al efecto de los isotiocianatos de distintos tipos de GS sobre la inhibición del crecimiento de distintos cultivos tumorales (Traka y Mithen, 2009; Lozano-Baena et al., 2015). Los mecanismos que explican la actividad anticarcinogénica de los productos de degradación de los GS, relacionan a estos productos con el aumento de la actividad de enzimas responsables de la detoxificación xenobiótica así como con la estimulación de la apoptosis y necrosis de células tumorales humanas (Johnson et al., 2016).

El impacto de una atmósfera enriquecida en CO_2 sobre la acumulación de GS se ha evaluado en varias especies de brásicas. Karowe et al. (1997) encontraron que el contenido en GS no se modificó en condiciones de alto CO_2 en cultivos de *B. rapa* y *Raphanus*, mientras que el contenido disminuyó en *B. juncea*. En cambio, Schonhof et al. (2007a) observaron que el contenido en GS incrementaba en condiciones de atmósferas enriquecidas en CO_2 en cultivos de brécol y col rizada. Se ha demostrado que tanto el estrés salino como el estrés hídrico aumentan la concentración en GS en diferentes especies de brásicas. Otros estudios no han encontrado diferencias o bien cambios muy leves en el contenido de GS entre plantas control y cultivadas bajo elevados niveles de CO_2 . En brécol, el aumento de la temperatura en condiciones de baja radiación aumentó el contenido en GS alifáticos y ácido ascórbico y disminuyó el contenido en GS indólicos (Schonhof et al., 2007a). Resultados similares obtuvieron Guo et al. (2016) en condiciones de estrés térmico e hipoxia en brotes de brécol. También se ha demostrado la interacción entre la concentración del CO_2 atmosférico y el contenido en GS en brécol, aumentando el contenido en glucorafanina (relacionado con la actividad anticarcinogénica del brécol) y en glucoiberina, con una reducción simultánea en el contenido en los GS indólicos (Schonhof et al., 2007b).

4. Biotecnología en la mejora genética de plantas

A los retos tradicionales basados en el incremento de la producción agrícola y en la práctica de una agricultura más compatible con el medio ambiente, hay que añadirles ahora otros desafíos que están surgiendo como consecuencia del cambio climático y ante el cual es preciso adoptar medidas urgentes de prevención y adaptación. Estos nuevos retos van a implicar indudablemente una mayor adaptación de los cultivos a nuevas condiciones medioambientales y el desarrollo de nuevas tecnologías aplicadas a la producción agrícola. Comprender cómo se van a adaptar las plantas de brásicas a estos cambios sigue siendo un reto. En las últimas décadas se han invertido esfuerzos



importantes que han llevado a la selección de variedades de brásicas con mayor producción y resistencia a sequía, salinidad, temperaturas extremas, plagas y enfermedades. En este contexto, son cada vez más necesarios los programas de mejora genética y la aplicación de todas las herramientas biotecnológicas disponibles en el desarrollo de variedades con resistencia y/o tolerancia a las nuevas condiciones medioambientales. Un enfoque multidisciplinar que suponga el trabajo conjunto de mejoradores, biotecnólogos y biólogos moleculares supone la estrategia ideal para el desarrollo de nuevas variedades.

La familia de las crucíferas es genéticamente muy diversa ofreciendo un pool genético de gran potencial para el desarrollo de nuevas variedades adaptadas a condiciones ambientales inciertas asociadas con el cambio climático. En mejora genética clásica, la introgresión de caracteres de interés se lleva a cabo mediante retrocruzamientos durante muchas generaciones, lo que supone años de largos procesos de cruzamientos y selección. Hoy en día, y gracias a nuevas e innovadoras técnicas englobadas en lo que se conoce como la biotecnología de plantas, los mejoradores de plantas disponen de valiosísimas herramientas para acelerar el proceso de mejora. La manipulación del genoma y la producción de plantas genéticamente modificadas, en lugar de la mejora clásica, pueden convertirse en una vía más eficiente para producir cultivos de brásicas resistentes al cambio climático. Entre las técnicas más novedosas y controvertidas, encontramos aquellas basadas en el ADN recombinante, que permiten la identificación, aislamiento y alteración de genes, así como su re-introducción en otros organismos para producir variedades transgénicas con las características deseadas. La transformación genética y el descubrimiento reciente de algunos de los principales mecanismos moleculares del ARN de interferencia (ARNi) han aportado un gran valor en estudios de genómica funcional y en el desarrollo de nuevas variedades de brásicas con alto valor añadido. Así, por ejemplo, se han obtenido plantas transgénicas de diferentes cultivos de brásicas (rutabaga, colza y repollo) resistentes a las plagas de lepidópteros, *P. xylostella* y *P. rapae* (Wang et al., 2014) y líneas transgénicas de mostaza, repollo chino y colza con resistencia a diversas enfermedades fúngicas.

El uso de la ingeniería genética y las herramientas genómicas ha permitido la identificación e incorporación de genes para mejorar la tolerancia a condiciones ambientales adversas. En la última década se han obtenido, mediante modificación genética variedades de *B. juncea*, *B. oleracea*, *B. rapa* y *B. napus* tolerantes a la salinidad y altas temperaturas. Así, diferentes autores han logrado líneas transgénicas de brécol tole-

rantes a condiciones de alta temperatura, demostrando que las plantas transgénicas pueden sobrevivir y desarrollarse a temperaturas de 34 °C. Prasad et al. (2000) obtuvieron mediante transgénesis plantas de *B. juncea* con una mayor germinación y desarrollo en condiciones de alta salinidad respecto a las plantas control. Recientemente, Rai et al. (2015) identificaron un gen en *B. juncea* que permite aumentar la tolerancia a la deshidratación y al estrés salino en plantas transgénicas de *Arabidopsis*. Las plantas transgénicas que sobreexpresaban el gen ERD4 mostraron una mayor tolerancia a la deshidratación, mientras que las plantas con el gen silenciado eran más susceptibles en comparación con las plantas no modificadas sometidas a los mismos tipos de estrés.

Se han identificado diversos mecanismos moleculares en la respuesta a estreses múltiples en los principales cultivos de brásicas. Esta respuesta suele ir acompañada de cambios a nivel de transcriptoma, proteoma y metaboloma. De este modo, las tecnologías 'ómicas' se han convertido en herramientas clave en la mejora genética vegetal por la potencialidad que presentan, tanto en el campo de la investigación básica, en el mapeo de genes y la identificación de marcadores moleculares, como en la identificación de funciones y rutas metabólicas implicadas en la respuesta fisiológica frente a estrés bióticos y abióticos. Los aportes de la metabolómica al estudio de relaciones huésped-patógeno han sido útiles para identificar cambios metabólicos asociados a la respuesta al patógeno. Recientemente, Tortosa et al. (2018) aplicaron estas técnicas en la identificación de metabolitos responsables de la defensa de plantas de *B. oleracea* a la respuesta al patógeno *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora Genética

Es sabido que la disponibilidad de material de partida con interesantes características es crucial para el inicio de cualquier programa de mejora. Gracias a la labor de prospección, caracterización y conservación, se dispone de variedades de brásicas adaptadas a diversas condiciones climáticas, que las convierten en fuentes de genes útiles para la producción de nuevos cultivares. En estudios realizados en la MBG se han identificado variedades en las colecciones de *B. oleracea*, *B. rapa* y *B. napus* conservadas en el banco de germoplasma de la MBG con un cierto grado de resistencia a la infección por la bacteria *Xanthomonas campestris* (Lema et al., 2012). Así mismo, se comprobó que algunas variedades locales de repollo mostraban resistencia tras infestación artificial con larvas de *M. brassicae* (Cartea et al., 2010), por lo que se comen-



zaron programas de selección y se iniciaron estudios para conocer los mecanismos de resistencia (antixenosis y antibiosis) implicados en la misma. Además, se estudió el comportamiento de diferentes variedades locales de *B. oleracea* frente al estrés por calor. Se evaluaron distintos aspectos morfológicos y bioquímicos y se encontraron variedades que podrían ser usadas en futuros programas de mejora por su tolerancia a altas temperaturas (Rodríguez et al., 2014).

La creciente demanda de germoplasma resiliente frente al cambio climático supone un desafío para los bancos de germoplasma y una oportunidad para impulsar un mayor uso de estas colecciones. En este sentido, las especies silvestres podrían desempeñar un papel fundamental ya que ellas sirven como un reservorio de genes a partir del cual se pueden desarrollar cultivos más resistentes y productivos. En las últimas décadas se ha llevado a cabo un esfuerzo notorio en la búsqueda y recolección de parientes silvestres de los cultivos como fuente de genes y caracteres de interés como respuesta a las necesidades y nuevos problemas que la producción agraria ha de afrontar ante el cambio climático. La familia de las crucíferas no fue una excepción; de hecho, la recolección y conservación de especies silvestres de esta familia de plantas fue una prioridad durante la década de los años 70. El material recolectado se conserva en bancos de germoplasma que también son responsables del mantenimiento, regeneración y caracterización de sus colecciones. Un estudio de los bancos de germoplasma que, a nivel mundial, albergan colecciones de especies cultivadas y silvestres de brásicas puede verse en Boukema y van Hintum (1999). La mayor parte de las accesiones se encuentran en bancos de germoplasma europeos (41%) y orientales (41%) y las especies silvestres identificadas (la mayoría pertenecientes al grupo *oleracea*) representan no más del 1% del total de accesiones almacenadas. A partir de 1991, y de acuerdo con las directrices del Brassica Working Group, perteneciente al European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources (ECP/GR) se ha encargado al Centre for Genetic Resources (CGN, Países Bajos) la creación y mantenimiento de una base de datos del germoplasma de Brassica que se encuentra almacenado en los países miembros, de los que España forma parte. Esta base de datos puede consultarse gratuitamente en: <http://ecpgr.cgn.wur.nl/Brasedb/default.htm>.

En España, la colección más importante de crucíferas silvestres se conserva en el banco de germoplasma de la ETSIA de la UPM, denominado 'Banco César Gómez-Campo' en honor a su fundador (<http://www.bancodegermoplasma.upm.es/>). La colección abarca más de 100 géneros diferentes de la familia, incluyendo géneros de importancia económica como *Raphanus* (rábano), *Eruca* (rúcula), *Lepidium* (mastuerzos o berros), *Nasturtium* (berros de agua) y *Wasabia* (wasabi), entre otros. Este germoplasma ha sido

ampliamente distribuido por todo el mundo y los resultados de las investigaciones realizadas con el mismo han sido resumidos en Gómez-Campo (2007). Algunas de las entradas de este banco han sido evaluadas para componentes de calidad en el IAS, habiéndose encontrado una gran variabilidad cuantitativa y cualitativa respecto al contenido en GS de sus partes verdes, lo que indica su potencial como nuevos cultivos con propiedades nutraceuticas (Tabla 3).

Tabla 3. Contenido en glucosinolatos ($\mu\text{moles/g}$ materia seca) en hojas de entradas del Banco de Germoplasma 'César Gómez Campo' cultivadas en el Instituto de Agricultura Sostenible.

Especie	Total	Alifáticos							Aromáticos	Indólicos		Otros
		PRO	SIN	GRA	GNA	GSAT	GBN	GER		SBN	GBS	
<i>Eruca vesicaria</i>	34,1			19,6		12,6		1,6				0,3
<i>Eruca sativa</i>	41,6			22,3		12,0		7,0				0,3
<i>Erucastrum virgatum</i>	56,7			28,7		16,7		11,1				0,3
<i>Brassica macrocarpa</i>	127,0	0,2	123,6		1,5					1,3	0,2	0,3
<i>Brassica villosa</i> <i>subs. tinei</i>	78,8	24,5	16,8		25,2		0,5			10,9		0,9
<i>Brassica villosa</i> <i>subs. bioniana</i>	118,6	0,4	39,9		71,9				2,3	2,1		1,9
<i>Sinapis pubescens</i>	114,4				112,1		1,3					1,1

PRO= progoitrina; SIN= sinigrina; GRA=glucorafanina; GNA=gluconapina; GSAT=glucosativina; GBN= glucobrasicanapina; GER= glucoerucina; SBN= sinalbina; GBS= glucobrasicina; NGBS= neoglucobrassicina.

Las especies silvestres del género *Brassica* (*B. rupestris*, *B. villosa*, *B. macrocarpa*, *B. insularis* y *B. incana*, entre otras), conocidas como n=9 por su dotación cromosómica han demostrado ser fuentes de genes útiles para la mejora agronómica y/o nutricional de los cultivos de brásicas hortícolas y oleaginosos (Warwick et al., 2000). De ahí, que hayan sido ampliamente utilizadas en programas de mejora como fuentes de alelos élite



donantes de importantes caracteres cuantitativos, como el rendimiento, la resistencia a enfermedades y plagas, la tolerancia a estreses abióticos (frío, salinidad y sequía) y como componentes de calidad (aceites semillas y GS). A modo de ejemplo se puede mencionar el trabajo de Branca y Cartea (2011), que en una revisión de las especies silvestres emparentadas con *B. oleracea* citan, entre otras, a *B. incana* como donante de genes de resistencia a la marchitez por *Verticillium*, a *B. insularis* como una fuente de resistencia a la enfermedad de la pierna negra que ataca a los cultivos de colza mayoritariamente y a *B. villosa* y *B. incana*, como donantes de resistencia al pulgón ceroso de las crucíferas, mosca blanca y al díptero de la mosca de la col, plagas muy frecuentes en las formas hortícolas (Ellis et al., 1999). Por otro lado, el estudio de 38 coenoespecies del grupo $n=9$ como fuente de resistencia a *Alternaria brassicae* ha permitido identificar 8 especies totalmente resistentes y 12 moderadamente resistentes (Sharma et al., 2002). Warwick et al. (2000) publicaron una guía de germoplasma silvestre de brásicas, la cual proporciona información muy útil sobre su hábito de crecimiento, número de cromosomas, distribución geográfica, calidad nutricional y diversos caracteres agronómicos de interés. No obstante, y a pesar de los esfuerzos llevados a cabo en las últimas décadas, la mejora vegetal no ha conseguido un control genético satisfactorio de patógenos y enfermedades mediante la utilización de las especies silvestres de *Brassica*. Ello se debe principalmente a la ausencia de fuentes de resistencia para la mayoría de las enfermedades (Tewari y Mithen, 1999) y plagas más importantes (Earle et al., 2004). Además, es preciso tener en cuenta que muchas de las especies silvestres de brásicas son sexualmente incompatibles con las especies cultivadas haciendo muy difícil la transferencia de genes útiles presentes en el pool silvestre. Gracias a los avances en biología celular como el rescate de embriones, la fusión de protoplastos o la transformación genética, se ha superado en muchos casos esta incompatibilidad sexual, facilitándose así la transferencia de genes deseables y la clonación y manipulación de estos genes.

6. Bibliografía

- Bezemer, T.M., and Jones, T.H. 1998. Plant-insect herbivore interactions in elevated atmospheric CO₂: Quantitative analyses and guild effects. *Oikos* 82:212–222.
- Bouchet, A.S., Laperche, A., Bissuel-Belaygue, C., Snowdon, R., Nesi, N., and Stah, A. 2016. Nitrogen use efficiency in rapeseed. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 36:38.
- Branca, F., and Cartea, M.E. 2011. Brassica. p. 17-36. En: C. Kole (ed.). *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. ISBN: 978-3-642-14870-5.

- Boukema, I.W., and van Hintum, T.J.L. 1999. Genetic Resources. p. 461-479. En: C. Gómez-Campo (ed). Elsevier Science BV, Amsterdam.
- Cartea, M.E., and Velasco, P. 2008. Glucosinolates in Brassica foods: bioavailability in food and significance for human health. *Phytochemistry*.7:213-229.
- Cartea, M.E., Padilla, G., Vilar, M., and Velasco, P. 2009. Incidence of the major Brassica pests in northwestern Spain. *J. Econ. Entomol.* 102:767-773.
- Cartea, M.E., Velasco, P., Vilar, M., Francisco, M., and Lema, M. 2010. Plagas y enfermedades de los cultivos de brásicas. Servicio de Publicaciones Diputación de Pontevedra. Pontevedra, España. ISBN: 978-84-8457-342-5.
- Choi, E.Y., Seo, T.C., Lee, S.G., Cho, I.H., and Stangoulis, J. 2011. Growth and physiological responses of Chinese cabbage and radish to long-term exposure to elevated carbon dioxide and temperature. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 52:376-386.
- Earle, E.D., Cao, J., and Shelton, A.M. 2004. Insect resistant transgenic brassicas. p. 227-251. En: E.C. Pua and C.J. Douglas (eds). *Biotechnol. Agriculture and Forestry*, vol 54. Springer, Berlin.
- Edwards, C.E., Ewers, B.E., McClung, C.R., Lou, P., and Weinig, C. 2012. Circadian, vegetative, reproductive, and leaf gas-exchange traits. *Mol. Plant* 5:653-668.
- Ellis, P.R., Pink, D.A.C., Barber, N.E., and Mead, A. 1999. Identification of high levels of resistance to cabbage root fly, *Delia radicum*, in wild *Brassica* species. *Euphytica* 110:207-214.
- Fereres, E., Fernández-Martínez, J., Mínguez, I., and Domínguez, J. 1983. Productivity of *Brassica juncea* and *Brassica carinata* in relation to rapeseed, *B. napus*. I. Agronomic studies. En: Proc. 6th Int. Rapeseed Conf., París, Francia. p. 293-298.
- Gago, J., Douthea, C., Florez-Sarasa, I., Escalona, J.M., Galmesa, J., Alisdair, R., Fernieb, F.J., and Medrano, H. 2014. Opportunities for improving leaf water use efficiency under climatechange conditions *Plant Sci.* 226:108-119.
- Giamoustaris, A., and Mithen, R. 1995. The effect of modifying the glucosinolate content of leaves of oilseed rape (*Brassica napus* spp. *oleifera*) on its interaction with specialist and generalist pest. *Ann. Appl. Biol.* 126:347-363.
- Gómez-Campo, C. 2007. Assessing the contribution of genebanks: the case of the UPM seed bank in Madrid. *Plant Gen. Res. Newsl.* 151:40-49.
- Guo, L., Yang, R., Zhou, Y., and Gu, Z. 2016. Heat and hypoxia stresses enhance the accumulation of aliphatic glucosinolates and sulforaphane in broccoli sprouts. *Eur. Food Res. Technol.* 242:107-116.



- Han, Y.L., Song, H.X., Liao, J.Y., Yu, Y., Lepo, J.E., Liu, Q., Rong, N., Tian, C., Zeng, J., Guan, C.Y., Ismail, A.M., and Zhang, Z.H. 2016. Nitrogen use efficiency is mediated by vacuolar nitrate sequestration capacity in roots of *Brassica napus*. *Plant Physiol.* 170:3.
- Johnson, T.L., Dinkova-Kostova, A.T., and Fahey, J.W. 2016. Glucosinolates from the Brassica vegetables and their health effects. *Encyclopedia of Food and Health*. p. 248-255. En: B. Caballero, P.M. Finglas, and F. Toldrá (eds). Oxford, Academic Press.
- Karowe, D.N., Seimens, D.H., and Mitchell-Olds, T. 1997. Species-specific response of glucosinolate content to elevated atmospheric CO₂. *J. Chem. Ecol.* 23:2569-82.
- Kirk, W.D.J. 1992. The herbivores. p. 8-18. En: S.A Corbet and R.H.L Disney (eds). *Insects on cabbage and oilseed rape*. Richmond publishing Co. Ltd., Reino Unido.
- Lee, S.G., Moon, J.H., Jang, Y.A., Kim, S.Y., and Ko, K.D. 2009. Change of photosynthesis and cellular tissue under high CO₂ concentration and high temperature in Radish. *Korean J. Hortic. Sci. Technol.* 27:194-198.
- Lee, S.G., Kim, S.K., Lee, H.J., Choi, C.S., and Park, S.T. 2016. Impacts of climate change on the growth, morphological and physiological responses, and yield of Kimchi cabbage leaves. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 57:470-477.
- Lema, M., Velasco, P., Soengas, P., Francisco, M., and Cartea, M.E. 2012. Screening for resistance to black rot in *Brassica oleracea* crops. *Plant Breed.* 131:607-613.
- Lozano-Baena, M.D., Tasset, I., Obregón-Cano, S., De Haro-Bailon, A., Muñoz-Serrano, A., and Alonso-Moraga, A. 2015. Antigenotoxicity and tumor growing inhibition by leafy *Brassica carinata* and sinigrin. *Molecules* 20:15748-15765.
- Lu, Z., Lu, J., Pan, Y., Lu, P., Li, X., Cong, R., and Ren, T. 2016. Anatomical variation of mesophyll conductance under potassium deficiency has a vital role in determining leaf photosynthesis *Plant, Cell Environ.* 39:2428-2439.
- Maity, A., and Pramanik, P. 2013. Climate change and seed quality: an alarming issue in crop husbandry. *Current Sci.* 105:1336-1338.
- Maity, A., Vijay, D., Mukherjee, A., and Lamichaney, A. 2016. Potential impacts of climate change on quality seed production: A Perspective of Hill Agriculture. p. 459-485. En: J.K. Bisht, V.S. Meena, P.K. Mishra, and A. Pattanayak (eds). *Conservation Agriculture: an approach to combat climate change in Indian Himalaya*, Singapore, Springer.
- Mishra, R.S., Abdin, M.Z., and Uprety, D. C. 1999. Interactive effects of elevated CO₂ and moisture stress on the photosynthesis, water relation and growth of *Brassica* species *J. Agr. Crop Sci.* 182:223-229.

- Nett, L., Sradnick, A., Fub, R., Flessa, H., and Fink, M. 2016. Emissions of nitrous oxide and ammonia after cauliflower harvest are influenced by soil type and crop residue management *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 106:217-231.
- Obregon-Cano, S. 2016. Estudio del contenido y valor nutracéutico de los glucosinatos y otros compuestos presentes en nabizas y grelos (*Brassica rapa* L. var. *rapa*) cultivados en el sur de España. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- Oh, S., Moon, K.H., Song, E.Y., Son, I.C., and Koh, S.C. 2015. Photosynthesis of Chinese cabbage and radish in response to rising leaf temperature during spring. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 56:159-166.
- Palmer, C.D., Keller, W., Singh, J., and Datla R. 2012. Brassica Crop Species: Improving Water Use Efficiency: Challenges and Opportunities. En: N. Tuteja, S.S. Gill, A.F. Tiburcio, and R. Tuteja (eds). *Improving Crop Resistance to Abiotic Stress*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany. doi:10.1002/9783527632930.ch50
- Prakash, S., and Hinata, K. 1980 Taxonomy, cytogenetics, and origin of crop Brassicas: A review. *Opera Botanica* 55:1-57.
- Rai, A.N., Tamirisa, S., Rao, K.V., Kumar, V., and Suprasanna, P. 2016. Brassica RNA binding protein ERD4 is involved in conferring salt, drought tolerance and enhancing plant growth in *Arabidopsis*. *Plant Mol. Biol.* 90:375.
- Rathore, S.S., Shekhawat, K., Kandpal, B.K., and Premi, O.P. 2016. Improving nutrient use efficiency in oilseeds Brassicas. p. 317-327. En: A. Rakshit, H.B. Singh, A. Sen (eds). *Nutrient Use Efficiency: from Basics to Advances*. Springer India DOI 10.1007/978-81-322-2169-2_20,
- Reddy, G.V.P., Tossavainen, P., Nerg, A.M., and Holopainen, J.K. 2004. Elevated atmospheric CO₂ affects the chemical quality of Brassica plants and the growth rate of the specialist, *Plutella xylostella*, but not the generalist, *Spodoptera littoralis*. *J. Agric. Food Chem.* 52:4185-4191.
- Ríos, P., Obregón, S., Haro, A., Fernández-Rebollo, P., Serrano, M.S., and Sánchez, M.E. 2016. Effect of Brassica biofumigant amendments on different stages of the life cycle of *Phytophthora cinnamomi*. *J. Phytopathol.* 164:582-594.
- Rosa, E.A.S. 1999. Chemical composition. p. 315-357. En: C. Gómez-Campo (ed). *Biology of Brassica coenospecies*. Elsevier Science B., Amsterdam.
- Rodríguez, V.M., Soengas, P., Alonso-Villaverde, V., Sotelo, T., Cartea, M.E., and Velasco, P. 2014. Effect of temperature stress on the early vegetative development of *Brassica oleracea* L. *BMC Plant Biol.* 15:145-153.



- Rodriguez-Hernandez, M.C., Moreno, D.A., Carvajal, M., and Martinez-Ballesta, M.C. 2014. Genotype influences sulfur metabolism in broccoli (*Brassica oleracea* L.) under elevated CO₂ and NaCl stress. *Plant Cell Physiol.* 55:2047-2059.
- Schonhof, I., Kläring, H.P., Krumbein, A., Clauben, W., and Schreiner, M. 2007a. Effect of temperature increase under low radiation conditions on phytochemicals and ascorbic acid in greenhouse-grown broccoli. *Agric. Ecos. Environ.* 119:103-111.
- Schonhof, I., Kläring, H.P., Krumbein, A., and Schreiner, M. 2007b. Interaction between atmospheric CO₂ and glucosinolates in broccoli. *J. Chem. Ecol.* 33:105-114.
- Schulte, L.R., Ballard, T., Samarakoon, T., Yao, L., Vadlani, P., Staggenborg, S., and Rezac, M. 2013. Increased growing temperature reduces content of polyunsaturated fatty acids in four oilseed crops. *Industrial Crops Products* 51:212-219.
- Sharma, G., Kumar, V.D., Haque, A., Bhat, S.R., Prakash, S., and Chopra, V.L. 2002. *Brassica* coenospecies: a rich reservoir for genetic resistance to leaf spot caused by *Alternaria brassicae*. *Euphytica* 125:411-417.
- Soengas, P., Padilla, G., Francisco, M., Velasco, P., and Cartea, M.E. 2011. Molecular evidence of outcrossing rate variability in *Brassica napus*. *Euphytica* 180:301-306.
- Talalay, P., and Zhang, Y. 1996. Chemoprotection against cancer by isothiocyanates and glucosinolates. *Biochem. Soc. Transactions* 24:806-810.
- Tewari, J.P., and Mithen, R.F. 1999. Diseases. p. 375-411. En: C. Gómez-Campo (ed). *Biology of Brassica coenospecies*. Elsevier, Amsterdam.
- Tortosa, M., Cartea, M.E., Rodríguez, V.M., and Velasco, P. 2018. Unraveling the metabolic response of *Brassica oleracea* exposed to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (black rot). *J. Sci. Food Agric.* DOI10.1002/jsfa.8876.
- Traka, M., and Mithen, R. 2009. Glucosinolates, isothiocyanates and human health. *Phytochemistry Rev.* 8:269-282.
- U, N. 1935. Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Jpn. J. Bot.* 7:389-452
- Vogg, G., Fisher, S., Leide, J., Emmanuel, E., Jetter, R., Levy, A.A., and Riederer, M. 2004. Tomato fruit cuticular waxes and their effects on transpiration barrier properties: functional characterization of a mutant deficient in a very long-chain fatty acid β -ketoacyl-CoA synthase. *J. Exp. Bot.* 55:1401-1410.
- Wang, Y., Zhang, Y., Wang, F., Liu, C., and Liu, K. 2014. Development of transgenic *Brassica napus* with an optimized cry1C gene for resistance to diamondback moth (*Plutella xylostella*). *Can. J. Plant Sci.* 94:1501-1506.



- Warwick, S.I., Francis, A., and Al-Shehbaz, I.A. 2006. *Brassicaceae*: species checklist and database on CD-Rom. *Pl. Syst. Evol.* 259:249-258.
- Warwick, S.I., Francis, A., and La Fleche, J. 2000. Guide to wild germplasm of Brassica and allied crops (tribe Brassiceae, *Brassicaceae*), 2nd ed. Agriculture and Agri-Food Canada. Research Branch Publication, ECORC, Ottawa, ON, Canada.
- Zaghdoud, C., Carvajal, M., Ferchichi, A., and Martínez-Ballesta, M.C. 2016. Water balance and N-metabolism in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) plants depending on nitrogen source under salt stress and elevated CO₂. *Sci. Total Environ.* 571:763-771.
- Zaghdoud C., Mota-Cadenas C., Carvajal M., Muries B., Ferchichi A., and Martínez-Ballesta M.C. 2013. Elevated CO₂ alleviates negative effects of salinity on broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) plants by modulating water balance through aquaporins abundance. *Environ. Exp. Bot.* 95:15-24.



Capítulo XII.

GRANADO, HIGUERA Y CAQUI

Granado: Pablo Melgarejo, Juan José Martínez, Pilar Legua, Rafael Martínez-Font y Francisca Hernández

Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Universidad Miguel Hernández de Elche). Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Orihuela (Alicante)

Higuera: Margarita López- Corrales, Francisco Balas, Fernando Pérez-Gragera y Guadalupe Domínguez

Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX). Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera
Departamento de Hortofruticultura

Caqui: M^a Luisa Badenes¹, Mar Naval², Simona Pecchioli³ y Edgardo Giordani³

- 1 Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias - IVIA - Valencia - España
- 2 Cooperativa Virgen del Oretto de L'Alcudia - Valencia - España
- 3 Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agro-Alimentari e dell'Ambiente - DISPAA - Università di Firenze - Italia





CONTENIDO:

1. Granado
 - 1.1. Introducción
 - 1.2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro
 - 1.3. Objetivos de mejora
 - 1.4. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 1.5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética
2. Higuera
 - 2.1. Introducción
 - 2.2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro
 - 2.3. Objetivos de mejora
 - 2.4. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 2.5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética
 - 2.6. Agradecimientos
3. Caqui
 - 3.1. Introducción
 - 3.2. Cambio climático: efectos actuales y perspectivas de futuro
 - 3.3. Objetivos de mejora
 - 3.4. Biotecnología aplicada a la mejora genética
 - 3.5. Recursos fitogenéticos y especies silvestres relacionadas para su uso en la mejora genética
4. Bibliografía

Capítulo XII.

GRANADO, HIGUERA Y CAQUI

1. Granado

1.1. INTRODUCCIÓN

El granado (*Punica granatum* L.) es un frutal apreciado por las diferentes civilizaciones desde antiguo, muy interesante para muchas regiones del mundo y que durante los últimos años está experimentando un importantísimo desarrollo, tanto por el aumento de plantaciones en todo el mundo como por la importancia que los investigadores y la sociedad ha dado a sus propiedades como alimento funcional y para la prevención y curación de enfermedades. Las investigaciones sobre sus propiedades y usos han despertado un renovado interés por la investigación agronómica y la obtención de nuevas variedades que permitan ampliar el calendario de recolección y mejoren las características de sus frutos en aquellos aspectos más valorados. También se ha desarrollado una nueva industria para su aprovechamiento, destacando la obtención de zumos, la obtención de aceites y extractos para diferentes usos, aunque su principal uso sigue siendo el consumo en fresco.

Este frutal es capaz de adaptarse a diferentes tipos de suelos y climas, tolerando el uso de aguas de mala calidad agronómica, a la vez que tiene menos necesidades hídricas que otros cultivos, razones por lo que ha sido tradicionalmente cultivado en regiones áridas. En los últimos años ha sido capaz, gracias a su rentabilidad, de traspasar las fronteras de estas zonas para ocupar otros con mejores recursos de suelo y agua, compitiendo con otros frutales tradicionalmente más importantes, como los cítricos.

1.2. CAMBIO CLIMÁTICO: EFECTOS ACTUALES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

A lo largo de la historia han tenido lugar variaciones climáticas, sin embargo, en las últimas décadas estos cambios han sufrido una aceleración respecto al ritmo con el que normalmente ocurrían. Esta fluctuación del clima está afectando sobre todo al régimen de temperaturas y de precipitaciones, por lo tanto, la agricultura resulta, en general, muy vulnerable. No en vano se estima que el incremento de la temperatura para el año 2100 será de entre 1,1 y 4°C (IPCC, 2017), lo que puede suponer graves problemas para la producción agrícola. En estas condiciones se necesitarán cultivos

con demostrada capacidad de adaptación a una amplia gama de condiciones de producción, entre las que se incluyan altas temperaturas y recursos hídricos escasos y de calidad muy variable.

El cultivo del granado no es ajeno a esta situación, resultando también afectado por este cambio, sin embargo, esta especie presenta una rusticidad que le facilita cierta flexibilidad para adaptarse a escenarios con aumento de la temperatura y escasez de recursos hídricos. En general, suelen analizarse los efectos que provoca el cambio climático de forma individual, pero realmente son varios los factores ambientales que de forma conjunta e interactiva terminan influyendo en la expresión vegetativa y en el potencial productivo de los cultivos. Así, estas condiciones de mayor temperatura y menores precipitaciones, generan un mayor diferencial de presión de vapor en la superficie foliar, lo que conlleva una mayor evapotranspiración que originará situaciones de estrés abiótico más intensas que las actuales, lo que también afectará al cultivo del granado. Sin embargo, aunque en condiciones de elevado estrés hídrico los árboles de esta especie pueden vivir y mostrar desarrollo vegetativo, se muestra vulnerable en algunos estados fenológicos, así durante el crecimiento y desarrollo del fruto este tipo de estrés favorecerá de forma muy notable el incremento del rajado de los frutos, así como del asolado o “albardado” de éstos. Las necesidades hídricas del granado son inferiores a las que presentan otras especies leñosas, como por ejemplo los cítricos, por lo que ante un escenario de falta de recursos hídricos esta especie es medioambientalmente más sostenible que otras.

El cambio climático conlleva escasez de precipitaciones, pero también irregularidad de las mismas, siendo frecuente en el Sureste y Levante de España el fenómeno meteorológico de gota fría, en el que una parte importante de la precipitación anual se concentra en unos pocos días, ocasionando inundaciones y encharcamiento en muchas parcelas dedicadas al cultivo del granado. Dada la sensibilidad que presenta este cultivo a la asfixia radicular, esta situación (especialmente en suelos pesados) afecta negativamente a las relaciones hídricas, parámetros de intercambio gaseoso, actividad fotosintética y biomasa seca total (Olmo et al., 2017). Además, en estas condiciones se facilita la aparición de enfermedades en el cuello y raíz de los árboles, que pueden llegar a producir la muerte de la planta.

Las causas que están influyendo en el cambio climático también generan un incremento de los niveles de CO_2 en el ambiente, lo que en principio puede favorecer el crecimiento del granado en condiciones no estresantes, sin embargo, esto debería ser comprobado experimentalmente, ya que la respuesta del granado bajo situaciones de estrés (elevadas temperaturas y falta de agua) podría ser distinta.



El incremento de la temperatura favorecerá periodos de actividad vegetativa más largos, lo que supone periodos de reposo invernal más cortos. Debido a las bajas exigencias en frío que presenta el granado, dependiendo de la zona del mundo en el que se cultive podría verse o no afectado. En cualquier caso se verá afectada su fenología, acortándose los estados fenológicos que tienen lugar durante el periodo de actividad vegetativa, ello supondrá, en general, en las diferentes variedades de granado, mayor precocidad en cuanto a las fechas de floración y recolección de la fruta. Esto obligará a los productores a elegir aquellas variedades que presenten un patrón fenológico capaz de adaptarse a las nuevas condiciones climáticas, y que satisfagan las exigencias de los consumidores. Así, en otras especies como el manzano, se han propuesto modelos de predicción de la fenología, ya que el momento del desarrollo de determinados estados fenológicos es fundamental para comprender como las plantas responden al cambio del clima (Yun et al., 2017).

El cambio climático ocasionará, no solamente un aumento de diferentes estreses abióticos claves para la producción del granado (salinización del suelo, asfixia radicular por episodios de lluvias torrenciales, deterioro de la calidad del agua y de la erosión del suelo), sino también una mayor presión por factores bióticos, como la introducción de plagas y enfermedades favorecidas por esas nuevas condiciones ambientales, modificación del comportamiento, tanto de las actuales plagas y enfermedades, como de sus depredadores naturales, lo que puede originar nuevos escenarios desconocidos hasta ahora.

Para afrontar esta nueva realidad resultará de vital importancia disponer de bancos de germoplasma de granado con la suficiente variabilidad genética, que nos permita obtener el material vegetal más apto para producir en este nuevo escenario climático, permitiendo adaptar las variedades a las condiciones climáticas cambiantes. También resultarán imprescindibles los avances en genómica, que sienten las bases para una rápida identificación de los genes implicados en los rasgos agronómicos relacionados con el clima, y por lo tanto, la obtención de variedades con una mayor adaptación a este cambio del clima (Scheben et al., 2016).

1.3. OBJETIVOS DE MEJORA

A partir de ciertas evidencias, diferentes equipos de investigación han mostrado interés por averiguar las propiedades de esta fruta, realizándose a la vez numerosos ensayos clínicos en muchos hospitales. El conocimiento más profundo de los componentes de esta fruta y las publicaciones científico-técnicas hacen que agricultores y mejoradores se interesen también por obtener frutos de mejor calidad morfológica y gustativa, mejoren las

técnicas de cultivo, mejorando la productividad y el rendimiento económico, buscando nuevas variedades que amplíen el periodo de recolección, perfeccionando las técnicas de conservación, resaltando además las propiedades de la granada como alimento funcional para la prevención/curación de enfermedades, lo que ha hecho que en los últimos años se mejoren las técnicas de cultivo y también se desarrolle notablemente el sector viverístico del granado en España, utilizando nuevas variedades registradas y vendiendo estos nuevos materiales no sólo en España sino en diferentes países del mundo.

1.3.1. *El material vegetal*

La única clasificación de patrones conocida hasta el momento (Melgarejo y Salazar, 2003), es la que distingue entre patrones *agrios o bordes* y patrones *dulces*. Los primeros son árboles cuyos frutos son ácidos, presentan un elevado contenido en ácidos orgánicos (AO); los segundos son árboles utilizados como variedades (con menor contenido en AO), por lo que no precisan ser injertados, salvo que se desee realizar un cambio varietal. La *acidez*, que permite clasificar tanto los patrones como las variedades, varía en esta especie entre límites amplios (Melgarejo, 1993), lo que no significa que estudiando una población más amplia no haya continuidad entre los valores de acidez para los tres grupos establecidos. Actualmente, la producción de granados se realiza sobre productores directos, sin que se utilicen patrones en la producción viverística, sin embargo, ya se han comenzado algunos estudios para el uso como patrones de algunos individuos del banco de germoplasma de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (EPSO) de la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH) y sobre otros de reciente obtención, por sus especiales características. El estudio de patrones en esta especie es una asignatura pendiente que ha de abordarse lo antes posible para obtener individuos con mejores características de adaptación al medio ecológico y mejorar la calidad y productividad de las actuales variedades.

En la actualidad las variedades con cierta acidez están teniendo una mayor aceptación, siendo valoradas no sólo por su mayor aptitud para la obtención de productos mínimamente procesados y derivados, sino también por otros atributos de calidad como son: el color rojo externo e interno, una acidez moderada y semillas no tan duras como las de Wonderful.

Del mismo modo se pueden clasificar los patrones y variedades por el índice de madurez (IM) (Melgarejo, 1993). Los valores que se exponen están referidos a las variedades españolas existentes en el banco de Germoplasma de la EPSO (UMH), resultando que las variedades dulces tienen un IM comprendido entre 31,7 y 97,7, mientras para las agrídulces se sitúa entre 17,6 y 23,1 y para las ácidas entre 5,7 y 6,2.



1.3.2. Requisitos exigibles a los patrones de granado

Los requisitos exigibles a los patrones de granado en el contexto español, considerando que mayoritariamente se cultiva en la región del Sureste, serían: resistencia a los ataques de barrena (*Zeuzera pyrina* L.), al escaldado del tronco (*Phytophthora* sp.), a la salinidad, a la asfixia radicular, a la caliza activa, a la sequía y a los nematodos; que tengan una baja o nula producción de sierpes, que presenten una capacidad de enraizamiento alta (ya que normalmente se propagan como productores directos) y que induzcan mayor calidad, productividad y calibre a la variedad. Los estudios sobre patrones son muy escasos, y aunque la planta presenta una rusticidad natural destacable, con gran capacidad de adaptación, resulta conveniente iniciar los trabajos necesarios para disponer de patrones adecuados a diferentes situaciones edafoclimáticas.

1.3.3. Requisitos exigibles a las variedades

Las variedades de granado son muy numerosas existiendo frecuentemente en las plantaciones tradicionales, dentro del mismo huerto, varios genotipos cuyo aspecto es distinguible a simple vista. Al problema de falta de selección varietal hay que añadir los escasos estudios sanitarios, desconociéndose la incidencia de virus o de fitoplasmas sobre las poblaciones de granado (Melgarejo y Salazar, 2003).

A los frutos de variedades para el consumo en fresco se les exige que sean dulces y de piñón tierno. Sin embargo, aunque las agridulces tienen una cuota de mercado más reducida, en los últimos años esta cuota está aumentando considerablemente hasta llegar a venderse en algunos viveros más de este tipo (moderadamente ácidas) mientras que las agrias encuentran su principal destino en los usos industriales. Se buscan preferentemente frutos de tamaño grande o muy grande, que sean rojos exterior e interiormente, deben tener un elevado rendimiento en semillas (porción comestible) y presentar facilidad para el desgranado; los frutos deben estar bien conformados, con cáliz no muy largo y sépalos cerrados, deben presentar resistencia al agrietado ya que cuando falta humedad en el suelo se pueden alcanzar grandes pérdidas por esta fisiopatía, así como resistencia al albardado (quemaduras por el sol). También resulta importante la resistencia a barrenadores del frutos y a alternaría, habiéndose observado que con la obtención de nuevas variedades, algunas de frutos rojos resultan muy atractivas para los barrenadores de frutos (Criptoblaves, Ectomieloy,...), y otras son más sensibles a alternaría que las cultivadas tradicionalmente.

La búsqueda de nuevas variedades para encontrar un calendario más amplio de recolección y mejores opciones para su comercialización está poniendo de manifiesto algunos problemas como los citados anteriormente, con mayor incidencia de la que se observa en las variedades tradicionales, más adaptadas, por lo que se recomienda realizar los pertinentes ensayos previos antes de optar por una nueva variedad.

A las plantas se les exige que sean productivas, con un adecuado número de flores hermafroditas, con floración y recolección agrupadas, con ausencia de espinas, con vigor adecuado y gran superficie foliar.

1.4. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEJORA GENÉTICA

El granado es una especie que presenta una gran variabilidad genética, por lo que la determinación de las relaciones genéticas y la identificación precisa de los genotipos para conservar su diversidad genética y la selección de los genotipos deseados es muy importante para los mejoradores. Ello permitirá a los mejoradores poder obtener nuevos cultivares que se adapten a las demandas de mercado. En la actualidad, los distintos centros de investigación que trabajan en la mejora genética de granado centran sus objetivos, principalmente, en: ampliar calendario de recolección y conservación frigorífica, obtener granadas de corteza más roja, sabor sub-ácido y semillas blandas (comúnmente denominado piñón), especialmente aquellos cultivares destinados a la exportación; asimismo también se centran en mejorar la resistencia al albardado, rajado, y a obtener cultivares con mayor contenido en compuestos bioactivos.

Las técnicas biotecnológicas contribuyen positiva y significativamente en los programas de propagación, conservación y mejoramiento de las especies vegetales. A pesar de que en granado todavía existen limitaciones en cuanto a la ingeniería genética que se utiliza en esta especie, varias son las técnicas biotecnológicas que se están utilizando como embriogénesis somática, organogénesis, variación somaclonal, mutagénesis, haploidia y conservación *in vitro*. De entre todas éstas, las técnicas de cultivo de tejidos han sido ampliamente utilizadas especialmente en la selección por tolerancia a distintos estreses (Teixeira et al., 2013).

Los genotipos de granada se han evaluado principalmente en función de los caracteres morfológicos, pero estos rasgos se ven afectados principalmente por las condiciones ambientales y de cultivo, y no dan lugar a una clara discriminación entre ellos (Kumar, 1999). Los procedimientos moleculares son más adecuados para una discriminación precisa de los genotipos y cultivares. Recientemente, se han utilizado los marcadores moleculares para evaluar la diversidad y las relaciones entre los genotipos de granada



(Narzary et al., 2009; Ranade et al., 2009; Hasnaoui et al., 2010; Moslemi et al., 2010; Pirseyedi et al., 2010). Los tipos de marcadores moleculares que se han utilizado en el granado son: (i) ADN polimórfico amplificado aleatoriamente (RAPD) (Zamani et al., 2010; Ercisli et al., 2011), (ii) polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) (Melgarejo et al., 2009), (iii) polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP) (Moslemi et al., 2010), (iv) polimorfismo de secuencia inter-simple (ISSR) (Narzary et al., 2009), y (v) repeticiones simples de secuencias (SSR) (Soriano et al., 2011).

A pesar de su popularidad estos marcadores, adolecen de reproducibilidad y a menudo no alcanzan la exactitud necesaria en la identificación del genotipo (Zhang et al., 2009). Para superar los inconvenientes de algunos de estos marcadores moleculares utilizando cebadores no específicos, se considera que los marcadores tipo microsatélites (Secuencias Simples Repetidas; SSR) son los mejores marcadores para determinar la diversidad genética de la granada (Ebrahimi et al., 2010; Soriano et al., 2011), dada su abundancia, alto polimorfismo, reproducibilidad y herencia codominante (Varshney et al., 2005). Las ventajas del uso de marcadores de SSR en la caracterización de germoplasma de plantas, en comparación con otros marcadores basados en PCR, está demostrada en un gran número de estudios publicados en diferentes cultivos (Achtak et al., 2009; Sefc et al., 2009; Zhang et al., 2009).

Actualmente, son varios los estudios de diversidad genética en granado que se han llevado a cabo utilizando marcadores SSR (Soriano et al., 2011; Parvaresh et al., 2012; Hasnaoui et al., 2012; Ferrara et al., 2014). Todos los estudios concluyen que los marcadores SSR se pueden usar con éxito para determinar la diversidad genética y la estructura de la población de la granada. Las relaciones cercanas entre algunos genotipos de granada estudiados, de diferentes regiones geográficas, podrían mostrar la existencia de ancestros comunes e indican la diferenciación genética relativamente débil entre los genotipos que probablemente se deba a una base genética intrínsecamente estrecha a partir de la cual se domesticó la granada, combinada con una historia de migración de germoplasma, que ha contrarrestado la selección humana en diferentes regiones de cultivo de granada del mundo.

1.5. RECURSOS FITOGENÉTICOS Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS PARA SU USO EN LA MEJORA GENÉTICA

Los recursos fitogenéticos son esenciales para el futuro y sostenibilidad de la agricultura moderna. Suponen una ingente reserva de material genético e información para satisfacer las demandas y nuevos retos del sector agroalimentario (Aguilera, 2012).

La pérdida de esa variabilidad por riesgo de erosión genética supone un claro hándicap a la hora de afrontar los requisitos actuales de los cultivos, además de un incremento en la vulnerabilidad de dichos cultivos frente a la aparición de nuevos patógenos y potenciales cambios ambientales.

Asimismo estos recursos filogenéticos son la base para la obtención de nuevas variedades. Las conocidas como "locales" contribuyen a mantener el equilibrio del ecosistema específico, por su adaptación al medio durante siglos y, por ende, mitigando los posibles efectos adversos atribuibles al cambio climático en la agricultura regional, nacional e internacional. Por tanto se hace imprescindible preservar el rico patrimonio genético agrícola nacional del que se dispone, consecuencia de la evolución e intercambios de material vegetal en la Península Ibérica a lo largo de la historia (Aguilera, 2012).

Según Chandra et al. (2010), el granado fue uno de los primeros cultivos frutales domesticados y cultivados (4.000-3.000 a. C.). Y aun habiendo sufrido un intenso proceso de selección a lo largo de la historia, no se observan grandes diferencias entre las formas cultivadas y las silvestres. Probablemente el ancestro silvestre del granado cultivado tendría una apariencia muy similar, aunque el calibre de los frutos fuera obviamente menor al igual que sus arilos (Still, 2006).

Hoy día el granado se cultiva mundialmente en zonas tropicales y subtropicales, bajo condiciones climáticas muy diversas como consecuencia de su gran variabilidad genética. Se pueden encontrar plantaciones comerciales de granado en numerosos países del arco mediterráneo, al igual que en el continente asiático y la extinta Unión Soviética. También existen plantaciones modernas en Argentina, Australia, Brasil, Chile, Sudáfrica y Estados Unidos (La Rue, 1980; Mars, 1994; Frison and Servinsky, 1995).

La gran diversidad genética observada en la especie frutal del granado queda patente con las más de 500 variedades distribuidas globalmente, de las que aproximadamente 50 se cultivan comercialmente (IPGRI, 2001), lo que ha supuesto una drástica reducción en la variabilidad genética de las variedades modernas de granado, a pesar del reservorio genético todavía existente en sus formas silvestres. Por lo tanto, es extremadamente importante conservar el patrimonio genético de las formas silvestres, así como de cultivares para mantener una amplia base genética para los futuros programas de mejora de granado (Rana et al., 2007).

Diversos grupos internacionales han realizado estudios considerables sobre biodiversidad del granado prospectando, seleccionando y conservando germoplasma de todo el mundo (Frison and Servinsky, 1995; Mars, 2000; Fadavi et al., 2006; Levin, 2006; Still, 2006; Zamani et al., 2007). La mayor colección de germoplasma de granado

se encuentra en Rusia (Still, 2006), mientras que las colecciones de otros países relevantes, así como los listados detallados de cultivares importantes y bancos de germoplasma, país por país, se muestran pormenorizadamente en el estudio realizado por Verma et al. (2010).

Por increíble que parezca y, a colación del estudio citado anteriormente, no se hace mención alguna a la colección de material vegetal de granado existente en la Universidad Miguel Hernández de Elche, concretamente en su Campus agroalimentario de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (EPSO). En la década de los 80, fruto del trabajo de prospección, selección y conservación de los recursos genéticos de granado en las provincias de Alicante y Murcia realizado por el Dr. P. Melgarejo, se gestó la creación del banco español de germoplasma de granado, quedando definitivamente establecido en 1998 gracias al Proyecto GENRES financiado por la Unión Europea. En la colección se encuentran un total de 72 accesiones.

Por tanto, el objetivo primordial del mantenimiento de las colecciones de granados autóctonos es evitar el riesgo de erosión genética de los individuos seleccionados, ya sean silvestres o cultivados, asegurando su correcto estado vegetativo y sanitario para que, llegado el caso, puedan extraerse muestras para su intercambio, multiplicación, evaluación y mejora.

“...La conservación, por sí sola, no es suficiente. Para la utilización eficaz de los recursos fitogenéticos son necesarias la caracterización, la evaluación, la documentación y la catalogación apropiada de los mismos. Por último, pero no en último lugar, el acceso a los RFAA es una condición esencial para su empleo en la investigación, el mejoramiento de las plantas y el desarrollo agrícola” (Esquinas-Alcázar, 2005).

2. Higuera

2.1. INTRODUCCIÓN

La higuera (*Ficus carica* L., $2n=26$) es una especie frutal perteneciente a la sección Eusyce de la familia Moraceae. El género *Ficus*, comprende alrededor de 700 especies localizadas principalmente en los trópicos y se clasifica en 6 subgéneros, los cuales se caracterizan por un particular sistema reproductivo (Berg, 2003).

Se trata de una especie ginodioica cuyas flores y frutos, numerosos y de pequeño tamaño, se encuentran localizados en el interior de un sicono. Los tipos de flores varían en las dos formas sexuales diferenciadas. Tras un proceso de co-evolución, la poliniza-

ción, denominada caprificación, se realiza exclusivamente mediante el himenóptero *Blastophaga psenes* L. En algunos tipos de higuera la caprificación no es esencial para la producción de frutos comestibles sino que son partenocárpicas. En la higuera hembra, cuando madura el sicono, se observa en su interior una gran cantidad de aquenios y un periantio carnoso y dulce, que es lo que conocemos como brevas e higos. Ambos frutos se diferencian en la fecha de maduración y en la edad del tejido a partir del cual se desarrollan: las brevas en la madera del año anterior y los higos en la madera del año. Las higueras hembras se clasifican en cuatro tipos productivos en base a sus necesidades de polinización y a su fructificación (Condit, 1955):

- Uníferas: producen únicamente higos de forma partenocárpica.
- Bíferas: son productoras de brevas e higos partenocárpicos.
- San Pedro: las brevas se desarrollan de manera partenocárpica, mientras que los higos necesitan ser caprificados.
- Esmirna: producen únicamente higos mediante caprificación.

Se trata de un árbol subtropical de hoja caduca cuyo crecimiento está limitado por las bajas temperaturas del invierno. Las típicas regiones productoras se caracterizan por veranos secos y calurosos, con baja humedad relativa e inviernos templados.

El crecimiento vegetativo y la producción de frutos son fuertemente dependientes de las condiciones climáticas. Generalmente, las higueras vegetan mejor y producen frutos de calidad en clima Mediterráneo seco con temperaturas cálidas. Es una especie de bajas necesidades de horas frío. Si bien la longitud del periodo de dormancia depende de las condiciones climáticas locales. De hecho, en climas desérticos donde las temperaturas del invierno oscilan entre 6 y 10°C, las higueras no pierden las hojas y la dormancia se elimina (Flaishman et al., 2008a).

Teniendo en cuenta que la respuesta del genotipo de higuera a factores ambientales varía ampliamente, en las últimas décadas se han realizado estudios de adaptación y comportamiento agronómico con el objetivo de seleccionar las variedades mejor adaptadas a estos climas (Kuden y Tanriver, 1998; Botti et al., 2003; Aljane y Ferchichi, 2008; Simsek, 2009; Caliskan y Polat, 2011; Gozlekci, 2011; Pereira et al., 2015, 2017). Todos los autores ponen de manifiesto los efectos de las condiciones climáticas en la cosecha, el tipo de producción (brevas e higos), las fechas de maduración y en la calidad de los frutos. Además, la producción de higo para consumo en seco es más dependiente de las condiciones climáticas, siendo más favorables en climas secos con temperaturas cálidas. En cambio, la higuera para la producción de higos en fresco puede ser cultivada bajo un amplio rango de condiciones ecológicas (Flaishman et al., 2008a).



2.2. CAMBIO CLIMÁTICO: EFECTOS ACTUALES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO.

El clima mundial ha ido cambiando siempre, y ha sido diferente del que conocemos actualmente. Hace tres millones de años, el sur de Europa tenía unas condiciones tropicales, y debido a una serie de cambios en la distribución de las masas continentales ha evolucionado hasta un clima como el que conocemos hoy. En los últimos 12.000 años, desde la finalización de la última glaciación, la temperatura media del planeta ha aumentado 8°C por causas naturales (Guzmán Álvarez, 2008).

La emisión antropogénica de gases de efecto invernadero, entre los que se encuentra el CO₂ como más conocido y con una participación estimada del 65%, están originando el denominado cambio climático global, con un aumento de las temperaturas medias (calentamiento global) y una diferente pluviometría tanto en cantidad como en distribución. El Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC, 2007), en su informe correspondiente al año 2007, preveía un aumento en la temperatura del aire en la superficie terrestre entre 1.8 y 4°C en el próximo siglo. Este cambio afecta en la actualidad y lo hará más acentuadamente en el futuro a todos los sistemas vivos, incluidas las plantas, y por lo tanto al medio agrario. Estas plantas se ven influidas tanto por el aumento de las concentraciones de CO₂ en la atmósfera como por el de las temperaturas.

El CO₂ es uno de los principales requerimientos abióticos para el desarrollo de las plantas por su efecto limitante en el proceso de la fotosíntesis.

A nivel celular, la respuesta de aclimatación de las plantas en niveles altos de CO₂ han sido descritos en 5 niveles: acumulación de azúcar y represión de genes (Krapp et al., 1993), absorción insuficiente de nitrógeno por la planta (Stitt y Krapp, 1999), unión del fosfato inorgánico con la acumulación de carbohidratos con una subsecuente limitación en la capacidad de regeneración en ribulosa 1,5 bifosfato (RuBP) (Sharkey, 1985); acumulación de almidón en los cloroplastos (Lewis et al., 2002) y capacidad de utilización de triosa fosfato (Hogan et al. 1996).

Los efectos primarios de un aumento de CO₂ en la atmósfera incluyen reducción en la conductancia de los estomas y la transpiración, desarrollo en la eficiencia del uso del agua, mayores ratios de fotosíntesis y un incremento en la eficiencia del uso de la luz (Drake y González-Meler, 1997). Estos efectos se traducen posteriormente en una mayor producción de biomasa y un aumento de la productividad (Idso et al, 1996). En este sentido, los autores González-Rodríguez y Peters (2010) estudiaron en hojas de higuera, las estrategias de la expansión foliar, determinando que éstas tienen un crecimiento muy rápido alcanzando la máxima expansión a los 30 días de su emer-

gencia, durante los cuales incrementan el área foliar y su grosor. Esta alta área foliar incrementa el potencial de interceptación foliar, y el alto grosor de la hoja incrementa el potencial de intercambio de gases, pudiendo ser los principales factores de una buena adaptación de *Ficus carica* a las condiciones mediterráneas y de climas semiáridos. No obstante, los efectos positivos derivados de unas mayores tasas fotosintéticas por mayores concentraciones de CO₂ pueden verse anulados por las mayores temperaturas y/o un descenso de las precipitaciones que afectarían de diferente manera a las distintas zonas de la geografía española, siendo necesario en algunas de ellas un incremento en las necesidades de riego. Es por ello prioritaria la identificación de los distintos niveles de impacto según regiones (Mínguez-Tudela et al., 2005).

El aumento de temperaturas afecta a las plantas sobre su fenología. Estudios realizados sobre la duración de las fenofases (brotación, floración y fructificación) indican en general un adelanto de varios días en distintos frutales, pero la forma en que afecta a estos cultivos depende de diversos factores, tales como la especie, cultivar, área y sistema de producción (Campoy et al., 2011). Para estimar ese impacto es necesario desarrollar modelos fenológicos para las distintas regiones. Una importante restricción debida al cambio climático es la reducción de horas frío, sobre todo en las zonas templadas y subtropicales. Dado que la mayoría de las especies frutales necesitan un determinado número de horas frío para tener una adecuada floración y fructificación, y que su número ha ido disminuyendo de forma paulatina y constante, muchos cultivos estarían en riesgo en lo que a su productividad se refiere. Otros aspectos serían una reducción en los agentes polinizantes o una función inadecuada de éstos, y la aparición de nuevas plagas y enfermedades o el cambio de los ciclos de desarrollo de las ya existentes.

En el caso de las especies del género *Ficus*, las temperaturas y la disponibilidad de agua (Coelho et al., 2014), así como la supervivencia de los polinizadores específicos de cada especie (Kjellberg y Valdeyron, 1990) han sido sugeridos como factores que limitan la distribución de los *Ficus* en diferentes regiones. En este sentido, la dispersión del polen de las higueras depende de las avispas hembras adultas, las cuales, a su vez, sólo pueden realizar la oviposición en las flores brevistilas que tapizan el interior del sicono de los prohigos. Estas avispas polinizadoras tienen una vida muy corta que oscila en torno a las 48 horas (Kjellberg et al., 1988; Kjellberg et al., 2014). La persistencia de este mutualismo depende, por tanto, de la coincidencia entre la fenología de la floración de la higuera y sus polinizadores, en combinación con la dispersión extremadamente efectiva de las avispas adultas femeninas y su capacidad de búsqueda de hospedadores (Ahmed et al, 2009). En consecuencia, los cambios en la fenología de las higueras debido a condiciones climáticas anormales podrían conducir a fluctuacio-



nes drásticas en las poblaciones de las avispas e incluso a su extinción local (Harrison, 2000). Este panorama debe ser tenido en cuenta en el caso de las variedades tipo Esmirna, cuya producción de higos depende de la colocación en los árboles de ramilletes de prohigos con las avispas receptoras, que deben ser reemplazadas cada tres días y durante al menos tres semanas ya que todos los siconos no son receptivos al mismo tiempo (Flaishman et al., 2008a). Esto puede evitarse en gran medida con la utilización de variedades partenocárpicas.

La adaptación al cambio climático requerirá del uso de distintas estrategias, entre las que podemos citar el cambio del tipo de cultivo, de la especie frutal o el uso de variedades más adaptadas.

Las perspectivas de futuro de esta especie en relación al cambio climático pueden considerarse bastante esperanzadoras debido principalmente a su rusticidad, bajas necesidades de horas frío y su adaptación a los climas templados con altas temperaturas estivales. Por un lado, se podrá establecer su cultivo en nuevas zonas con menor riesgo de heladas o inviernos más benignos y, por otro lado, en regadíos con bajas dotaciones de agua ya que sus necesidades hídricas oscilan en torno a los 3500 m³/ha para el consumo en fresco (Pereira et al., 2017). Sin embargo, las producciones comerciales podrían verse mermadas notablemente en los secanos tradicionales de suelos poco fértiles y profundos en los que no fuese posible la aplicación de riegos de apoyo durante los meses de verano.

2.3. OBJETIVOS DE MEJORA

Actualmente la mejora de la higuera está orientada a satisfacer el elevado criterio de calidad que exige el sector de la fruticultura en lo que se refiere a producción, calidad del fruto y aptitud postcosecha.

- Producción: son necesarias variedades altamente productivas y de rápida entrada en producción, con árboles de menor porte y más resistentes a heladas. También ampliar la época de fructificación mediante el desarrollo de variedades tempranas y tardías.
- Calidad de frutos: Las brevas e higos, para ser comercializadas en fresco, deben ser grandes, firmes, dulces y, sobre todo, más homogéneos en tamaño y forma. Los higos para secado deben tener un elevado contenido en azúcares.
- Aptitud postcosecha: los frutos frescos se degradan rápidamente en el propio árbol y tras su recolección. Por ello es necesario alargar la vida útil, no sólo me-



dian­te mane­jo, si­no tam­bién des­de el en­fo­que de me­jora ge­né­ti­ca de ca­rac­te­res co­mo la fir­me­za y la du­re­za de la piel.

Ade­más de es­tos ob­jetivos, en el fu­tu­ro de­berían in­cluirse cul­ti­va­res con ba­jos re­que­ri­mien­tos de ho­ras frío, rús­ti­cos y con po­cas ne­ce­si­da­des hí­dri­cas.

2.4. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEJORA GENÉTICA.

Da­do que la hi­gue­ra es­tá muy re­le­ga­da des­de el pun­to de la me­jora ve­ge­tal, es­to se re­fle­ja en la es­ca­sa apli­ca­ción de apro­xi­ma­cio­nes bio­tec­no­lógicas al cul­ti­vo. No obs­tan­te sí que exis­ten al­gunas ex­pe­rien­cias de cul­ti­vo *in vitro*, mu­ta­gé­ne­sis, trans­for­ma­ción y se­cuen­cia­ción en la hi­gue­ra.

En lo re­fe­ren­te a las téc­ni­cas de cul­ti­vo *in vitro*, es po­si­ble re­a­li­zar cul­ti­vos de ye­mas y ge­ne­rar in­di­vi­duos co­mpletos fun­cio­na­les en cam­po, así co­mo la mi­cro­pro­pa­ga­ción de los mis­mos (Mitro­fa­no­va et al., 2016). El co­no­ci­mien­to que se tie­ne so­bre di­fe­ren­tes me­dios de cul­ti­vo para plan­to­nes de hi­gue­ra tam­bién ha per­mi­ti­do es­tu­dios para e­va­luar la to­le­ran­cia a la se­quía en dis­tin­tas va­rie­da­des (She­ka­fan­deh y Ho­ja­ti, 2012). Es­te es­tu­dio de­scri­be la uti­li­za­ción de dis­tin­tas con­cen­tra­cio­nes de po­li­e­til­glicol (PGE) para si­mu­lar es­trés hí­dri­co en los me­dios de cul­ti­vo y sus au­to­res su­gie­ren es­te mé­to­do para o­tras es­pe­cies. Por o­tro la­do, Met­wa­li et al. (2016) in­di­can que el ma­ni­tol pue­de ser uti­li­za­do para ge­ne­rar es­trés hí­dri­co en plan­tas de hi­gue­ra cul­ti­va­das *in vitro* y, me­diante téc­ni­cas mo­le­cu­la­res (RAPD y ISSR-PCR), aso­cian tres pri­mers con la to­le­ran­cia a se­quía los cua­les pue­den ser uti­li­za­dos en pro­gra­mas de me­jora vía se­lec­ción asis­ti­da con mar­ca­do­res y de­sar­rol­lar cul­ti­va­res to­le­ran­tes a la se­quía me­diante trans­for­ma­ción ge­né­ti­ca.

En cuan­to a la in­ducción de mu­ta­cio­nes para ge­ne­rar va­ria­bi­li­dad, de­sta­ca el uso que se le dió en la Unión So­vié­ti­ca en los años 1980s. Es­ta ex­pe­rien­cia se ba­só en el uso de ra­diación gamma y con­clu­yó exi­to­sa­men­te con el lan­za­mien­to de la va­rie­dad 'Bol' (Akhund-Zade 1981).

Las téc­ni­cas de trans­for­ma­ción tam­bién se han apli­ca­do de ma­ne­ra sa­tis­fac­to­ria en hi­gue­ra en Vol­ca­ni Center, Is­ra­el. Flaish­man (2008b) ha de­scri­to ca­sos exi­to­sos de trans­for­ma­ción ge­né­ti­ca. Aun­que aún no exis­te en el mer­ca­do nin­gu­na va­rie­dad trans­gé­ni­ca, sin du­da es un pro­ce­so que abre mu­chas po­si­bi­li­da­des para la me­jora en las pró­xi­mas dé­ca­das.

Por úl­ti­mo, ha ha­bi­do un avan­ce co­n­si­de­ra­ble en lo que con­cier­ne al co­no­ci­mien­to ge­nó­mi­co y tran­scrip­to­mi­co de la es­pe­cie en los úl­ti­mos años. Ac­tu­al­men­te exis­te un pri­mer bor­ra­dor del ge­no­ma de la hi­gue­ra, di­lu­ci­da­do me­diante es­tu­dio de aso­cia­ción (ge-



nome-wide association study, GWS) y secuenciación (whole-genome sequencing, WGS) (Mori et al. 2017). Este trabajo ha permitido identificar un gen involucrado en la determinación de sexo, además de un gran número de SNPs que abren nuevas posibilidades en el estudio de caracteres de interés. Otros autores han continuado este trabajo secuenciando la variedad 'Cuello de Dama Blanco', que ha permitido describir el primer transcriptoma de la higuera e identificar nuevas secuencias de interés (Solorzano-Zambrano et al. 2017).

2.5. RECURSOS FITOGENÉTICOS Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS PARA SU USO EN LA MEJORA GENÉTICA.

En España, el panorama varietal está constituido por variedades locales, que son el resultado de la selección natural promovida por las distintas condiciones edafoclimáticas, pero también de una selección artificial por parte de los agricultores. La mayoría de estas variedades locales presentan una distribución muy restringida y su cultivo está poco extendido o casi extinto, mientras que unas pocas son variedades de muy antiguo cultivo que se han extendido dentro y fuera de nuestras fronteras, tomando distintos nombres. En la revisión realizada por López-Corrales et al. (2016) se muestran, por Comunidades Autónomas, las principales variedades locales, resaltando aquellas que localmente se han considerado de mayor importancia.

Los principales recursos fitogenéticos de esta especie se localizan en el Banco de Germoplasma de higuera del CICYTEX-La Orden, en el cual más del 93% son variedades locales procedentes de las distintas CCAA españolas. Estas variedades están adaptadas a condiciones edafoclimáticas muy dispares, con diferentes pluviometrías, tipos de suelos, altitudes, etc., y constituyen un importante reservorio de genes para su utilización en programas de mejora.

En cuanto al material silvestre, algunas especies incluidas en el género *Ficus* L. presentan muchas similitudes con *Ficus carica* L. en distintos aspectos, tales como hábito de crecimiento, forma de la hoja y características del fruto, pudiendo ser polinizadas por el mismo insecto y cruzándose con facilidad: *F. geraniifolia* Miq., *F. palmata* Forssk., *F. persica* Boiss., *F. serrata* L., *F. virgata* Reinw Ex Blume, *F. pseudocarica* Miq. (Condit, 1947; Zukorskij, 1950). Algunas especies de *Ficus* han sido ya utilizadas en programas de mejora de higos, tales como *F. palmata* Forssk., *F. pumila* L. y *F. pseudocarica* Miq. (Storey, 1975; IBPGR, 1986).

2.6. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto RFP2013-00006 del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Ministerio de Educación

y Ciencia y fondos FEDER. Margarita López Corrales es beneficiaria de un contrato financiado por la Comunidad Autónoma de Extremadura y fondos FEDER (TA13040).

3. Caqui

3.1. INTRODUCCIÓN

El caqui (*Diospyros kaki* Thunb.) es un frutal de origen asiático muy apreciado en Oriente y que, en los últimos años, se está difundiendo cada vez más en los cinco continentes. El caqui produce un fruto muy atractivo por color y forma, y es también apreciado por sus propiedades nutraceuticas debido al elevado contenido de taninos y, por ende, a su actividad antioxidante. Se comercializa como producto fresco en dos formas: fruto duro o blando. En el primer caso se trata de frutos pertenecientes a variedades naturalmente no astringentes (poco cultivadas en Europa) o a variedades astringentes cuyos frutos se someten a un tratamiento artificial de eliminación de la astringencia mediante un tratamiento con CO₂. El fruto de consistencia dura se está afirmando cada vez más, debido a que permite el transporte a largas distancias, presenta menor costo de embalaje, y mejor comportamiento en postcosecha. En oriente también se comercializa como fruto deshidratado. Se trata de una especie muy productiva, de relativamente fácil manejo y que se ha adaptado muy bien al clima mediterráneo.

3.2. CAMBIO CLIMÁTICO: EFECTOS ACTUALES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

Las principales variables afectadas por el cambio climático son básicamente la temperatura y el régimen pluviométrico. En el caso de la temperatura se ha observado en los últimos años un aumento de la misma. Este incremento afecta a la fenología del caqui y al patrón de maduración de las variedades; además altera el inicio del reposo o latencia invernal, la brotación primaveral y el período de maduración del fruto. La alteración de la fenología debido al cambio climático puede producir pérdidas importantes al alterar la salida de latencia. El aumento de la temperatura, una vez se han cubierto las necesidades de frío, puede inducir la brotación temprana y aumentar la susceptibilidad a heladas tardías. Por ello es necesaria la experimentación de las variedades para determinar la adaptabilidad de las mismas a estas zonas y evitar las pérdidas (Marshall et al., 2011).

También los frutos se ven afectados por las temperaturas altas, así, Sugiura (2010) cita alteraciones de la calidad del fruto en caqui debido al aumento de temperatura, como cambios en la evolución del color del fruto, reducción de la acidez, ablandamiento y mayor susceptibilidad a enfermedades y fisiopatías en postcosecha. También



Woolf y Ferguson, (2000) comprobaron los efectos negativos de las altas temperaturas en campo, en la posterior conservación del caqui y en la calidad del fruto. Mowat et al., (1997) compararon el cultivo de la variedad 'Fuyu' en una zona cálida-media y en una zona cálida subtropical; los resultados revelaron que la temperatura durante la maduración tiene un efecto sobre la composición química de los frutos, acumulándose más contenido en azúcares y menos taninos en las zonas subtropicales.

Las altas temperaturas también están afectando a la emergencia de nuevas plagas y enfermedades. Este cultivo en el área mediterránea no contaba con plagas que le afectarían, más allá de la mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata*), sin embargo en los últimos años se han detectado hemípteros de la familia de los pseudocócidos y lepidópteros que están causando daños en el cultivo (Tena et al., 2016). Dado que el cambio climático afecta a la fenología de la planta, el estudio de las plagas y sus enemigos naturales se debe coordinar con el ciclo del cultivo (Bignell et al., 2018). La elaboración de un plan de gestión integrada donde se monitoricen los enemigos naturales adaptados a las condiciones actuales del cultivo se ha convertido en una necesidad (García-Martínez et al., 2018; Pérez-Hedo et al., 2016). Los cambios de temperatura además de afectar a los insectos causantes de plagas y a sus enemigos naturales, también pueden afectar a los polinizadores necesarios para el correcto cuajado del fruto y producir pérdidas. Giannini et al. (2017) mediante modelos matemáticos estimaron la previsión de las pérdidas de producción en Brasil en distintos cultivos por la disminución de la polinización, también el caqui cuyo fruto es partenocárpico puede verse afectado.

En el caso de la pluviometría, la reducción de las precipitaciones está afectando a las zonas de cultivo de caqui mediterráneas, más sensibles al cambio climático. El efecto del estrés hídrico en caqui ha sido estudiado por Buesa et al., (2013); estos autores concluyeron que la especie es muy sensible al déficit hídrico. Kanety et al., (2014) demostraron el incremento en producción y calibre de los frutos al incrementar el riego. Lo que indica que la restricción de recursos hídricos en un escenario de cambio climático producirá pérdidas de producción en caqui. Por otro lado, un manejo inadecuado del riego puede producir fisiopatías en frutos (Ben-Arie et al., 2008). Zhang et al. (2009) observaron que cuando sometieron plantas de caqui a altas temperaturas y alta concentración de CO₂ éstas mostraban mayor contenido en clorofila pero la tolerancia al estrés seguía dependiendo del contenido en agua del suelo.

Sin embargo, en zonas áridas y semiáridas, el manejo del déficit hídrico de forma moderada puede evitar los efectos negativos en el cultivo (Badal et al., 2013). Por ello, el manejo del riego deficitario en coordinación con la fenología del caqui es una nece-

sidad del cultivo en estas zonas (Intrigliolo et al., 2018). Otra consecuencia del déficit de lluvias es la progresiva salinización de suelos y aguas de riego. La salinidad continúa siendo un problema en zonas áridas y semiáridas, la extensión de las mismas debido al cambio climático vaticina un aumento de los problemas de salinidad en los cultivos. Incescu et al. (2014) estudiaron los efectos de la salinidad en dos especies utilizadas como patrón de caqui *D. kaki* y *D. virginiana*. Las plantas de *D. kaki* resultaron más afectadas en crecimiento y en parámetros de intercambio gaseoso que las de *D. virginiana*, demostrando la mayor susceptibilidad a salinidad del *D. kaki*. Este hecho se ha constatado en los últimos años en zonas de expansión del cultivo en España, detectándose daños por toxicidad de sales, como el cloruro en plantas de caqui injertadas sobre *D. lotus* y menor afectación en el caso de *D. virginiana* (de Paz et al., 2016). En este sentido la fertirrigación ante un escenario de cambio climático también debe de adaptarse. Los efectos de las dosis de abonado también han sido estudiados. Choi et al. (2010; 2011) revisaron la fertirrigación en caqui y demostraron que dosis altas tenían una influencia negativa, constatando la disminución de la calidad de los frutos ante un exceso de fertilización nitrogenada.

En este contexto, el material vegetal (variedades y patrones) debe adaptarse a estas nuevas condiciones del binomio clima-suelo, mediante la incorporación de mayor tolerancia a estreses abióticos como el hídrico, la salinidad y el estrés por temperatura. Asimismo, las prácticas de cultivo deben contribuir a una mayor tolerancia del cultivo a los estreses derivados del cambio climático. La gestión de plagas y enfermedades debe incluir el mantenimiento de los enemigos naturales de las nuevas plagas emergentes, y los tratamientos fitosanitarios coordinados con los cambios fenológicos de la planta para mantener la eficiencia de los mismos. Dado que el cambio climático reducirá la disponibilidad de recursos escasos como el agua, también es necesario mantener un manejo sostenible de los mismos, para ello la aplicación eficiente del déficit hídrico será un requisito en las zonas de cultivo semiáridas y la fertilización deberá tener en cuenta las necesidades de la planta y no contribuir a la salinización de suelos y acuíferos.

3.3. OBJETIVOS DE MEJORA

El caqui es un frutal de zonas templadas con una adaptación varietal amplia, desde zonas subtropicales como Brasil a zonas más continentales (Norte de Japón, Corea y China) pasando por zonas de clima mediterráneo (Yamada et al., 2012)

Un objetivo común a todos los programas de mejora de variedades de caqui es la obtención de frutos no astringentes de una calidad superior. Es decir frutos de buen

calibre y apariencia, resistencia al rajado del fruto, buena conservación post-cosecha y alta calidad organoléptica (Badenes et al., 2015; Bellini and Giordani, 2005; Yamada et al., 2012). Dentro de la calidad organoléptica, la tendencia actual es destacar además el contenido en principios activos que incrementen el valor nutricional y los beneficios para la salud del consumo de frutas, entre ellas el caqui. En un escenario de cambio climático, las nuevas variedades además de cumplir con estos objetivos deben de adaptarse a los diferentes estreses abióticos, con el fin de mantener la productividad del cultivo en rangos óptimos.

Por otro lado, la obtención de patrones clonales que permitan una mejor adaptación a las condiciones edáficas cambiantes también es un requisito necesario. En la actualidad se utilizan patrones francos de semillas de las especies *D. kaki*, *D. lotus* y *D. virginiana*. El más utilizado es *D. kaki* con la excepción del área mediterránea, cuyos suelos calizos y alto pH no permiten el uso de esta especie y se utilizan semillas de *D. lotus*, sin embargo este patrón ha demostrado ser muy susceptible a la salinidad (de Paz et al., 2016). Además, la falta de precipitaciones en los últimos años ha causado toxicidad por cloruros en plantaciones de caqui en España (de Paz et al., 2016). En suelos salinos, *D. virginiana* es adecuado por su mayor tolerancia a la salinidad, pero presenta otros inconvenientes como el alto vigor, el retraso en la entrada en producción y la emisión de rebrotes. Dado que los problemas de sequía y salinidad se han presentado recientemente, no existen programas de mejora de patrones en los distintos países, solamente se ha iniciado un estudio para seleccionar patrones más tolerantes a la salinidad en el IVIA (Gil-Muñoz et al., 2018).

3.4. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA MEJORA GENÉTICA

La poliploidia de la especie *D. kaki*, ha dificultado la obtención de recursos genéticos como mapas genéticos, o el mapa genómico de la especie. Esto ha obligado al uso de marcadores dominantes tipo RAPDs (Badenes et al., 2003; Luo et al., 1995) y AFLPs (Kanzaki et al., 2000; Yonemori et al., 2008) en los primeros estudios genéticos de caqui. Posteriormente, la obtención de marcadores codominantes tipo SSR (Soriano et al., 2006) han permitido estudios genéticos de diversidad (Naval et al., 2010; Park et al., 2010), pero la ploidia no ha permitido el desarrollo de mejora asistida por marcadores.

La mayor parte de los estudios moleculares están dirigidos a la identificación de genes de la ruta de las antocianinas, relacionadas con el carácter astringencia, el objetivo común de todos los programas de mejora. El desarrollo de técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS) permite disponer de mayores recursos genéticos para es-

tudiar otros genes de interés; por ejemplo, se dispone de un transcriptoma de caqui (Luo et al., 2014) que aporta secuencias de transcritos de diferentes rutas metabólicas que permiten explorar diferencias de expresión de genes relacionados con estreses.

Por otra parte, existen numerosos genes descritos ligados a estreses abióticos en plantas modelo, pero los estudios en caqui siguen siendo escasos. Wang et al., (2016) clonaron genes relacionados con estrés abiótico (temperatura, salinidad) además de genes de la ruta del ácido salicílico y giberélico a partir de la variedad 'Nantongxiao-fangshi' y analizaron las diferencias de expresión. La expresión del gen DkDREB2C también se estudió en condiciones de estrés por calor.

Hou et al. (2015) estudiaron la expresión diferencial de genes ortólogos de la ruta de las lipoperoxidasas (LOX) clonados en caqui en diversos tejidos. La sobreexpresión del DkLOX3 en plantas transgénicas de *Arabidopsis* demostró una mayor tolerancia a la salinidad y sequía, vía la regulación de ROS (especies reactivas de oxígeno). Estos autores sugieren que este gen está implicado en los procesos de maduración, senescencia e inducción de etileno ante condiciones de estrés, por ello destacan el potencial papel de los genes de esta ruta en la adaptabilidad del caqui a los estreses producidos por el cambio climático.

La publicación del genoma de la especie *D. lotus*, cuya dotación cromosómica es diploide, puede ser la herramienta que permita dar un impulso cualitativo a la identificación de genes de interés para la mejora del caqui en los próximos años (Akagi et al., 2016).

3.5. RECURSOS FITOGENÉTICOS Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS PARA SU USO EN LA MEJORA GENÉTICA

El caqui se originó en China, desde donde pasó a Corea y Japón, para luego llegar a California y a Europa. De hecho la mayor parte de las variedades cultivadas derivan del germoplasma nativo o de programas de mejora (selección clonal y cruzamiento) conducidos esencialmente en Japón. En Europa las actividades de mejora se han desarrollado en Italia y, en forma preponderante en los últimos años, en España. Estos se han basado en el empleo de material genético perteneciente a colecciones de germoplasma en su mayoría constituidos por accesiones importadas de Japón, China, Corea y secundariamente de USA y Brasil. Algunas accesiones consideradas de origen local individualizadas en Italia (Kaki Tipo) y en la zona de Valencia (Rojo Brillante) han sido integradas y empleadas en los programas de mejora (Giordani y Nin, 2013; Badenes et al., 2012). En su mayoría estos recursos genéticos son representados por variedades de caqui (*D. kaki* Thunb.) con genoma hexaploide ($6n = 90$), con número de base cromosómico $X = 15$ y por algunas pocas variedades nonaploides ($9n = 135$) generalmente



infértiles, lo cual implica un esquema de segregación complejo y muy bajas tasas de progenies homocigotas para caracteres recesivos. Entre ellos figura la no astringencia del fruto duro, carácter extremadamente importante en las modernas cadenas de producción. Otro aspecto que limita la mejora mediante hibridación es la expresión del sexo (el caqui es definido como especie polígamo-dioica) ya sea en la fase de elección de parentales (la mayor parte de los mejores cultivares presentan solo flores femeninas y muy pocas variedades diferencian flores masculinas) que en la fase de selección de progenies (la presencia de flores masculinas es un carácter negativo porque impide obtener frutos apirenos por vía partenocárpica muy apreciados a nivel comercial). Unas pocas accesiones de *D. lotus* L. y *D. virginiana* L. (especies empleadas esencialmente como portainjertos del caqui) completan el germoplasma conservado. En referencia a la adaptabilidad climática, el *D. lotus* resiste al rigor invernal y a la sequía, pero resulta susceptible a salinidad y a tumores causados por *Agrobacterium tumefaciens*; *D. virginiana*, en cambio, se adapta mejor a suelos pesados. Por otro lado, *D. kaki* presenta un aparato radicular delicado y *D. rhombifolia* es empleado a nivel experimental para reducir el vigor de la planta (Badenes et al., 2015).

Informaciones sobre la expresión de caracteres fenológicos y morfológicos relacionados con la adaptabilidad climática de las accesiones pertenecientes a colecciones de germoplasma pueden ser adquiridas consultando volúmenes monográficos y bases de datos (Martínez-Calvo et al., 2012; Giordani y Bellini, 1998; Gene Bank Project, NARO, Japón). Estudios dedicados específicamente a “resistencia” a factores ambientales se están llevando a cabo en China, zona de origen del caqui, donde se está caracterizando el germoplasma nativo ya sea silvestre o domesticado (Luo and Wang, 2008).

4. Bibliografía

- Achtak, H., Oukabli, A., Ater, M., Santoni, S., Kjellberg, F., Khadari, B. 2009. Microsatellite markers as reliable tools for fig cultivar identification. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 134: 624–631.
- Aguilera, C. 2012. Libro blanco de los Recursos Fitogenéticos con riesgo de erosión genética de interés para la Agricultura y la Alimentación en Andalucía. Dirección General de la Producción Agrícola. Junta de Andalucía. Sevilla. 204 p.
- Ahmed, S., Compton, S.G., Butlin, R.K. and Gilmartin, P.M. 2009. Wind-borne insects mediate directional pollen transfer between desert fig trees 160 kilometers apart. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 20342–20347.

- Akagi, T., Comai, L., Tao, R. and Henry, I.M. 2016. Whole genome sequencing Project in persimmon. VI International Symposium on Persimmon. Valencia, 16-21 octubre.
- Akhud-Zade, I.M. 1981. Radiation mutagenesis in subtropical crops (in Russian, English abstract). L-ya Vses Konf. p0 Prikl. Radiohiol. 1981: 50-51.
- Aljane, F. and Ferchichi, A. 2008. Pomological characteristics of local fig (*Ficus carica*) cultivars in southern Tunisia. Acta Hort. 798: 123–128.
- Badal, E., El-Mageed, T.A., Buesa, I., Guerra, D., Bonet, L. and Intrigliolo, D.S. 2013. Moderate plant water stress reduces fruit drop of “Rojo Brillante” persimmon (*Diospyros kaki*) in a Mediterranean climate. Agr. Water Manage. 119: 154-160.
- Badenes, M.L., Garcés, A., Romero, C., Romero, M., Clavé, J., Rovira, M., Llácer, G. 2003. Genetic diversity of introduced and local Spanish persimmon cultivars revealed by RAPD markers. GenetRes.Crop.Evol. 50: 579–585.
- Badenes, M.L., Naval, M., Martinez-Calvo, J. and Giordani, E. 2012. Material vegetal y mejora genetica. El cultivo del caqui. 3: 57-77. Generalitat Valenciana - IVIA.
- Bellini, E., Giordani, E. 2005. Germplasm and breeding of persimmon in Europe. Acta Hort. 685: 65–75.
- Ben-Arie, R., Zilka, S., Klein, I. and Gamrasni, D. 2008. Persimmon and environment: soil and water management for high quality fruit production. Advances in Horticultural Science 22: 286-293.
- Berg, C.C. 2003. *Flora malesiana* precursor for the treatment of Moraceae 1: The main subdivision of *Ficus*: The subgenera. Blumea 48: 167-78.
- Bignell, L. Senior and D. 2017 Oag Monitoring and control strategies for mealybug of persimmon in Australia. Acta Horticulturae VI International Symposium on persimmon
- Botti, C., Franck, N., Prat, L. and Ioannidis, D. 2003. The effect of climatic conditions on fresh fig fruit field quality and type of crop. Acta Hort. 605: 37–42.
- Buesa, I., Badal, E., Guerra, D., Ballester, C., Bonet, L. and Intrigliolo, D.S. 2013. Regulated deficit irrigation in persimmon trees (*Diospyros kaki*) cv. 'Rojo Brillante'. Sci. Hort. 159: 134-142.
- Caliskan, O. and Polat, A.A. 2011. Phytochemical and antioxidant properties of selected fig (*Ficus carica* L.) accessions from the eastern Mediterranean region of Turkey. Sci. Hort. 128: 473–478.
- Campoy, J.A., Ruiz, D. and Gea, J. 2011. Dormance in temperate fruit trees in a global warming context: a review. Sci. Hort. 130: 357-372.



- Chandra, R., Babu, D.K., Jadhav, V.T. and Teixeira da Silva, J.A. 2010. Origin, history and domestication of pomegranate. In: Chandra, R. (Ed.), Pomegranate. Fruit Veg. Cereal Sci. Biotechnol., vol. 4, Special Issue 2, pp. 1–6.
- Choi, S.T., Kang, S.M., Park, D.S., Hong, K.P., and Rho, C.W. 2011. Combined effects of leaf/fruit ratios and N and K fertigation levels on growth and distribution of nutrients in pot-grown persimmon trees. *Sci. Hort.* 128: 364–368.
- Choi, S.T., Park, D.S., Kang, S.M., and Cho, Y.C., 2010. Effect of fruit-load on the growth, absorption, and partitioning of inorganic nutrients in young ‘Fuyu’ persimmon trees. *Sci. Hort.* 126: 408–12.
- Coelho, L.F.M., Ribeiro, M.C. and Pereira, R.A.S. 2014. Water availability determines the richness and density of fig trees within Brazilian semideciduous forest landscapes. *Acta Oecol.* 57: 109–116.
- Condit, I.J. 1947. The fig. *Chronica Botanica*. pp 25–80. Whaltan. Massachusetts.
- Condit, I.J. 1955. Fig varieties: a monograph. *Hilgardia* 23: 323–538.
- De Paz, J.M., Visconti, F., Tudela, L., Bonet, L., Quiñones, A. and Intrigliolo, D. 2016. Chloride phytotoxicity on persimmon ‘Rojo Brillante’ evidenc from Valencia cropping area. Abstract S4O1. VI International Symposium on Persimmon. October 16–20, Valencia, Spain.
- Drake, B.G. and González-Meler, M.A. 1997. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* 48: 609–639.
- Ebrahimi, S., Sayed-Tabatabaei, B.E. and Sharifnabi, B. 2010. Microsatellite isolation and characterization in pomegranate (*Punica granatum* L.) Iran. *J. Biotechnol.* 8(3): 163–165.
- Ercisli, S., Gadze, J., Agar, G., Yildirim, A. and Hizarci, Y. 2011. Genetic relationships among wild pomegranate (*Punica granatum*) geno-types from Coruh Valley in Turkey. *Genet. Mol. Res.* 10(1): 459– 464.
- Esquinas-Alcázar, J.T. 2005. Protecting crop genetic diversity for food security: political, ethical and technical challenges. *Nat. Rev. Genet.* 6: 946–953.
- Fadavi, A., Barzegar, M. and Azizi, M.H. 2006. Determination of fatty acids and total lipid content in oilseed of 25 pomegranates varieties grown in Iran. *J. Food Compos. Anal.* 19: 676–680.
- Ferrara, G., Giancaspro, A., Mazzeo, A., Giove, S., Matarrese, A., Pacucci, C., Punzi, R., Trani, A., Gambacorta, G., Blanco, A. and Gadaleta, A. 2014. Characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes collected in Puglia region, Southeastern Italy. *Sci. Hort.* 178: 70–78.

- Flaishman, M., Rodov, V. and Stover, E. 2008a. The Fig: Botany, Horticulture and Breeding. Hort. Rev. 34: 113-196.
- Flaishman, M., Yablovich, Z., Golobovich, S., Salamon, A., Cohen, Y., Perl, A., Yancheva, S.D., Kerem, Z. and Haklay, E. 2008b. Molecular Breeding in Fig (*Ficus carica*) by the Use of Genetic Transformation. Acta Horticultrae 798: 151-158.
- Frison, E.A. and Servinsky, J. 1995. Directory of European Institutions Holding Crop Genetic Resources Collections, Vol 1, 4th Edn. Int. Plant Genet. Resour. Inst.
- Giannini, T.C., Costa, W.F., Imperatriz, V.L., Saravaira, A.M., Biesmeijer, J. and Garibaldi, L.A. 2017. Projected climate change threatens pollinators and crop production in Brazil. PLoS ONE 12(8): e0182274.
- Giordani E., Bellini E. 1998. The European Minor Fruit Tree Species Database. <http://www.ueresgen29.unifi.it/netdbase/db1.htm>.
- Giordani E. and Nin S. 2013. Evolution and challenges of persimmon production in Italy after one hundred years of cultivation. In: V International Persimmon Symposium, ISHS, vol. 996: 29-42.
- González-Rodríguez, A.M. and Peters, J. 2010. Strategies of leaf expansion in *Ficus carica* under semiarid conditions. Plant Biology 12: 469-474
- Gozlekci, S. 2011. Pomological traits of fig (*Ficus carica* L.) genotypes collected in the west Mediterranean region in Turkey. J. Anim. Plant Sci. 21: 646-652.
- Guzmán, J.R. 2008. Panorama de la agricultura ante el desafío energético y el cambio climático. Agricultura 197: 232-241.
- Harrison, R.D. 2000. Repercussions of El Niño: drought causes extinction and the breakdown of mutualism in Borneo. Proc R Soc B: Biol. Sci. 267: 911-915.
- Hasnaoui, N., Buonamici, A., Sebastiani, F., Mars, M., Trifi, M. and Vendramin, G.G. 2010. Development and characterization of SSR markers for pomegranate (*Punica granatum* L.) using an enriched library. Conserv. Genet. Resour. 2: 283-285.
- Hasnaoui, N., Buonamici, A., Sebastiani, F., Mars, M., Zhang, D. and Vendramin, G. 2012. Molecular genetic diversity of *Punica granatum* L. (pomegranate) as revealed by microsatellite DNA markers (SSR). Gene 493: 105-112.
- Hogan, K.P., Whitehead, D., Kallaral, J., Buwalda, J.G., Meekings, J., Rogers, G.N.D. 1996. Photosynthetic activity of leaves of *Pinus radiata* and *Notofagus fusca* after 1 year of growth at elevated CO₂. Aust J Plant Physiol 23: 623-630.



- Hou, Y., Meng, K., Han, Y., Ban, Q., Wang, B., Suo, J., Lvj-Rao J. 2015. The persimmon 9-lipoxygenase gene DKLOX3 plays positive roles in both promoting senescence and enhancing tolerance to abiotic stress. *Front Plant Sci.* 6: 1073.
- IBPGR. 1986. *Ficus carica* L.In; Genetic Resources in tropical and sub-tropical fruits and nuts: 63-69.
- Idso, S.B., Kimball, B.A. and Hendrix, D.L. 1996. Effects of atmospheric CO₂ enrichment on chloropyll and nitrogen concentrations on sour orange tree leaves. *Environ Exp Bot* 36: 89-96.
- Incescu, M., Cimen, B., Yesiloglu, T. and Yilmaz. 2014. Growth and photosynthetic response of two persimmon rootstocks (*Diospyros kaki* and *D. virginiana*) under different salinity levels. *Not. Bot. Horti. Agrobo.* 42 (2): 386-391.
- Intrigliolo, D.S., de Paz, J.M., Ballester, C. and Bonet, L. 2018. Quantifying persimmon tree responses to water and nutrients for designing efficient and sustainable fertirrigation. *Acta Horticulturae* (in press) VI International Symposium on Persimmon.
- IPCC (Intergovernmental Panel of Climate Change). 2017. Climate change 2017: Synthesis report. Summary for policymakers.
- IPCC. 2007. Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assesment report of the intergovernmental panel on climate change. In Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Avery, K.B., Tignor, M. and H.M. Miller, (eds) Cambridge University Press. Cambridge.
- IPGRI. 2001. Regional report CWANA 1999–2000. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, pp. 20–28.
- Kanety, T., Naor, A., Gips, A., Dicken, U., Lemcoff, J.H. and Cohen, S. 2014. Irrigation influences on growth, yield, and water use of persimmon trees. *Irrigation Sci.* 32(1): 1-13.
- Kanzaki, S., Yonemori, K., Sato, A., Yamada, M., and Sugiura, A. 2000. Analysis of the genetic relationships among pollination-constant and non-astringent (PCNA) cultivars of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) from Japan and China using amplified fragment length polymorphism (AFLP). *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 69: 665–670.
- Kjellberg, F., Doumesche, B. and Bronstein, J.L. 1988. Longevity of a fig wasp (*Blastophaga psenes*). *Proc. K. Ned. Akad. Wet. C* 91: 117–122.
- Kjellberg, F. Suleman, N., Raja, S., Tayou, A. and Hossaert-McKey, M. 2014. Some pollinators are more equal than others: Factors influencing pollen loads and seed set capacity of two actively and passively pollinating fig wasps. *Acta Oecol.* 57: 73–79.

- Kjellberg F. and Valdeyron G. 1990. Species-specific pollination: a help or a limit to range extension? In *Biological invasions in Europe and the mediterranean basin* (ed di Castri F, Hansen AJ). Dr. W. Junk publishers. pp 371–378.
- Krapp, A., Hoffman, B., Schafer, C., LaMorte, R.L., Wall, G.W., Hunsaker, D.J., Wechsung, F. and Kartscjhall, T. 1993. Regulation of the expression of *rbcS* and other photosynthetic genes by carbohydrates: a mechanism for the “sink” regulation of photosynthesis? *Plant. J.* 3: 817-828.
- Kuden, A.B. and Tanriver, E. 1997. Plant genetics resources and selection studies on figs in the east Mediterranean and south east Anatolia regions. *Acta Hort.* 408: 49-54.
- Kumar, L.S. 1999. DNA markers in plant improvement. *Biotechnol. Adv.* 17: 143–183.
- La Rue, J.H. 1980. Growing pomegranates in California. UC Fruit & Nut Research Information center.
- Levin, G.M. 2006. *Pomegranate Roads: A Soviet Botanist’s Exile from Eden*, 1st Edn. Floreant Press, Forestville, California, pp. 15–183.
- Lewis, J.D., Wang, X.Z., Griffin, K.L. and Tissue, D.T. 2002. Effects of age and ontogeny on photosynthetic responses of a determinate annual plant to elevated CO₂ concentrations. *Plant Cell Environ.* 25: 359-368.
- López-Corrales, M., Pérez-Gragera, F. and Balas, F. 2016. Las variedades locales en la mejora genética de plantas. *Higuera*. 341- 358. ISBN: 978-84-457-3395-0. Edita: Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco.
- Luo, C. Zhang, Q. and Luo, Z. 2014. Genome-wide transcriptome analysis of Chinese pollination-constant nonastringent persimmon fruit treated with ethanol. *BMC Genomics* 15: 112.
- Luo, Z. and Wang, R. 2008. Persimmon in China: Domestication and traditional utilizations of genetic resources. *Advances in Horticultural Science* (22)4: 239-243.
- Luo, Z.R., Yonemori, K. and Sugiura, A. 1995. Evaluation of RAPD analysis for cultivar identification of persimmons. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 64: 535–541.
- Mars, M. 1994. La culture du grenadier (*Punica granatum* L.) et du figuier (*Ficus carica* L.) en Tunisie. In: *First meeting CIHEAM coop. Res. Network on underutilized Fruit Trees*, Zaragoza, Spain, pp. 76–83.
- Mars, M. 2000. Pomegranate plant material: genetic resources and breeding, a review. *Opt. Mediterr. Ser. A Semin. Mediterr.* 42: 55–62.
- Marshall, D., Edwards, N., Spiers, J.M. and Stringer, S.J. 2011. Performance of Persimmon (*Diospyros kaki*) Cultivars in Southern Mississippi. *Int. J. Fruit Sci.* 11 (4): 386-392.

- Martínez-Calvo, J., Badenes, M.L. and Llácer, G. 2012. Descripción de variedades de caqui del banco de germoplasma del IVIA. Monografías INIA. Serie Agrícola, n°: 28. 78 pp. ISBN: 978-84-7498-552-8.
- Melgarejo, P. 1993. Selección y tipificación varietal de granado (*Punica granatum* L.). Universidad Politécnica de Valencia.
- Melgarejo, P., Martínez, J.J., Hernández, F., Martínez, R., Legua, P., Oncina, R. and Martínez-Murcia, A. 2009. Cultivar identification using 18S- 28S rDNA intergenic spacer-RFLP in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Sci. Hortic.* 120: 500-503.
- Melgarejo, P. and Salazar, D.M. 2003. Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas. Vol. II. AMV. Ediciones y Mundi-Prensa. Madrid.
- Metwali, E.M.R., Soliman, H.I.A., Howladar, S.M., Fuller, M.P. and Al-Zahrani, H.S. 2016. Appraisal of in vitro drought stress among three different cultivars of fig (*Ficus carica* L.) using RAPD and ISSR markers. *Plant Omics. Journal.* 9(1): 1-11.
- Minguez-Tudela, M.I., Ruiz, A. and Estrada, A. 2005. Evaluación preliminar de los impactos en España por efecto del cambio climático. Impacto sobre el sector agrario. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid. Spain. pp 437-468.
- Mitrofanova, I.V., Mitrofanova, O.V., Lesnikova-Sedoshenko, N.P., Chelombit, S.V., Shishkina, E.L. and Chirkov, S.N. 2016. Phytosanitary status of *Ficus carica* collection orchards in Nikita Botanical Gardens and biotechnology of fig plants regeneration. *Acta Horticulturae* 1139: 303- 309.
- Mori, K., Shirasawa, K., Nogata, H., Hirata, C., Tashiro, K., Habu, T., Kim, S., Himeno, S., Kuhara, S. and Ikegami, H. 2017. Identification of RAN1 orthologue associated with sex determination through whole genome sequencing analysis in fig (*Ficus carica* L.) *Sci. Rep.* 7: 411-24
- Moslemi, M., Zahravi, M. and Khaniki, G.B. 2010. Genetic diversity and population genetic structure of pomegranate (*Punica granatum* L.) in Iran using AFLP markers. *Sci. Hortic.* 126: 441-447.
- Mowat, A.D., George, A.P. and Collins, R.J. 1997. Macro-climatic effects on fruit development and maturity of non-astringent persimmon (*Diospyros kaki* L. cv Fuyu) *Acta Horticulturae* 436: 195-202.
- Narzary, D., Mahar, K.S., Rana, T.S. and Ranade, S.A. 2009. Analysis of genetic diversity among wild pomegranate in Western Himalayas using PCR methods. *Sci. Hortic.* 121: 237-242.

- Naval, M.M. Zuriaga, E., Pecchioli, S., Llacer, G., Giordani, E. and Badenes M.L. 2010. Analysis of genetic diversity among persimmon cultivars using microsatellite markers. *Tree Genet. Genome* 6: 677-687.
- Olmo-Vega, A., García-Sánchez, F., Simón-Grao, S., Simón, I., Lidón, V., Nieves, M. and Martínez-Nicolás, J.J. 2017. Physiological responses of three pomegranate cultivars under flooded conditions. *Sci. Hortic.* 224: 171-179.
- Park, Y.H., Hwang, J.H., Parl, Y.O., Kim, S.C., Lee, Y.J., Kang, J.S., Choi, Y.W. and Son, B.G. 2010. Evaluation of genetic diversity among persimmon cultivars using microsatellite markers. *Korean Journal Life Science* 20: 632-638.
- Parvaresh, M., Talebi, M., Ebrahim, B. and Tabatabaei, S. 2012. Molecular diversity and genetic relationship of pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes using microsatellite markers. *Sci. Hortic.* 138: 244-252.
- Pereira, C., Serradilla, M.J., Martín, A., Villalobos, M.C., Pérez-Gragera, F. and López-Corrales, M. 2015. Agronomic behaviour and quality of six cultivars for fresh consumption. *Sci. Hort.* 185: 121-128.
- Pereira, C., Serradilla, M.J., Pérez-Gragera, F., Martín, A., Villalobos, M.C., López-Corrales, M. 2017. Evaluation of agronomic and fruit quality traits of fig tree varieties (*Ficus carica* L.) grown in Mediterranean conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research*. Vol 15. Nº3 DOI: 10.5424/sjar/2017153-10403.
- Pérez-Hedo, M., Catalán, J., García-Martínez, O., Beitia, F. and Urbaneja, A. 2016. Gestión Integrada de Plagas de Caqui. (<http://gipcaqui.ivia.es>).
- Pirseyyedi, S.M., Valizadehghan, S., Mardi, M., Ghaffari, M.R., Mahmoodi, P., Zahravi, M., Zeinalabedini, M. and Nekoui, S.M.K. 2010. Isolation and characterization of novel microsatellite markers in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Int. J. Mol. Sci.* 11: 2010-2016.
- Rana, J.C., Pradheep, K. and Verma, V.D. 2007. Naturally occurring wild relatives of temperate fruits in western Himalayan region of India: an analysis. *Biodivers. Conserv.* 16: 3963-3991.
- Ranade, R.A., Rana, T.S. and Narzary, D. 2009. SPAR profiles and genetic diversity amongst pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 15(1): 61-70.
- Scheben, A., Yuan, Y. and Edwards, D. 2016. Advances in genomics for adapting crops to climate change. *Curr. Plan. Bio.* 6: 2-10.
- Sefc, K.M., Pejic, I., Maletic, E., Thomas, M.R. and Lefort, F. 2009. Microsatellite markers for grapevine: tools for cultivar identification and pedigree reconstruction. In:

- Roubelakis- Angelakis, K.A. (Ed.), Grapevine Molecular Physiology & Biotechnology. Kluwer Publishers, Amsterdam, pp. 565–596.
- Sharkey, T.D. 1985 O₂-insensitive photosynthesis in C3 plants: Its occurrence and a possible explanation. *Plant Physiol.* 78: 71-75.
- Shekafandeh, A. and Hojati, S. 2012. *In vitro* drought effects on morphological and physiological indices of two fig (*Ficus carica* L.) cultivar. *Advances in Horticultural Science.* 26(3/4): 131-137.
- Simsek, M. 2009. Fruit performances of the selected fig types in Turkey. *Afr. J. Agric. Res.* 4: 1260–1267.
- Solorzano-Zambrano, L., Usai, G., Vangelisti, A., Mascagni, F., Giordani, T., Bernardi, R., Cavallini, A., Gucci, R., Caruso, G., D'Onofrio, C., Quartacci, M.F., Picciarelli, P., Conti, B., Lucchi, A. and Natali, L. 2017 Cultivar-specific transcriptome prediction and annotation in *Ficus carica* L. *Genomics Data.* 13: 64–66.
- Soriano, J.M., Pecchioli, S., Romero, C., Vilanova, S., Llácer, G. and Badenes, M.L. 2006. Development of microsatellite markers in polyploid persimmon (*Diospyros kaki* L) from an enriched genomic library. *Mol. Ecol. Notes* 6: 368–370.
- Soriano, J.M., Zuriaga, E., Rubio, P., Llacer, G., Infante, R. and Badenes, M.L. 2011. Development and characterization of microsatellite markers in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Mol. Breed.* 27: 119–128.
- Still, D.W. 2006. Pomegranates: a botanical prospective. In: Seeram, N.P., Schullman, R.N., Heber, D. (Eds.), *Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine*. CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton, Florida, pp. 199–209.
- Stitt, M. and Krapp, A. 1999. The interaction between elevated carbon dioxide and nitrogen nutrition: the physiological and molecular background. *Plant Cell Environ.* 22: 583-621.
- Storey, W.B. 1975. *Figs*. *Advances in fruit breeding*. Ed. by Janick and J. Moore 568–589. Purdue University Press.
- Sugiura, T. 2010. Characteristics of responses of fruit trees to climate changes in Japan. *Acta Hort.* 872: 85-88.
- Teixeira, J.A., Singh, T., Narzary, D., Verma, N., Tarachand, D. and Ranade, S.A. 2013. Pomegranate biology and biotechnology: A review. *Sci. Hort.* 160: 85-107.
- Tena, A., García-Bellón, J. and Urbaneja, A. 2016. Native and naturalized mealybug parasitoids fail to control the new citrus mealybug pest *Delottococcus aberiae*. *Journal of Pest Science*, doi:10.1007/s10340-016-0819-7.

- Varshney, R.K., Graner, A. and Sorrells, M.E. 2005. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends. Biotechnol.* 23: 48–55.
- Verma, N., Mohanty, A., and Lal, A. 2010. Pomegranate genetic resources and germplasm conservation: a review. In: Chandra, R. (Ed.), *Pomegranate. Fruit Veg. Cereal Sci. Biotechnol.* Vol 4, Special Issue 2, pp. 120–125.
- Wang, P.H., Xiong, A.S., Gao, Z.H., Yu, X.Y., Li, M., Hou, Y.J., Sun, C. and Qu, S.C. 2016. Abstract S205.
- Woolf, A.B. and Fergurson, I.B. 2000. Postharvest responses to high fruit temperatures in the field. *Postharvest Biology and Technology* 21 (1) 7-20
- Yamada, M., Giordani, E. and Yonemori, K. 2012. Persimmon. En M.L. Badenes y D.H. Byrne (Eds.), *Fruit Breeding*, vol. 8 (pp. 663–693). New York: Springer.
- Yonemori, K., Honsho, C., Kitajima, A., Aradhya, M., Giordani, E., Bellini, E. and Parfitt, D.E. 2008. Relationship of European persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) cultivars to Asian cultivars, characterized using AFLPs. *Gen. Res. Crop. Evol.* 55: 81-89.
- Yun, K., Hsiao, J., Jung, M.P., Choi, I.T., Glenn, D.M., Shim, K.M., and Kim, H.H. 2017. Can a multi-model ensemble improve phenology predictions for climate change studies? *Ecol. Model.* 362: 54-64.
- Zamani, Z., Sarkhosh, A., Fatahi, R. and Ebadi, A. 2007. Genetic relationships among pomegranate genotypes studied by fruit characteristics and RAPD markers. *J. Horti. Sci. Biotechnol.* 82: 11–18.
- Zamani, Z., Zarei, A. and Fatahi, R. 2010. Characterization of progenies derived from pollination of pomegranate cv. Malase-Tourshe- Saveh using fruit traits and RAPD molecular marker. *Sci. Hortic.* 124: 67–73.
- Zhang, D., Mischke, S., Johnson, E.S., Philips-Mora, W. and Meinhardt, L. 2009. Molecular characterization of an international cacao collection using microsatellite markers. *Tree Genet. Genomes.* 5: 1–10.
- Zhang, Z.B., Shi, Z.A., Song, L.Y., Wang, Y., Zhang, S.Y. and Zhang, J.N. 2009. Effects of climate change on photosynthesis of *Diospyros kaki* under different soil moisture condition. "<https://www.scopus.com/sourceid/22594?origin=recordpage>" \o "Go to the information page for this source".20: 2129-2134.
- Zukorskiy, P.M. 1950. *Ficus*. In: *Cultivated plants and their wild relatives*. State Publishing House Soviet Science. Moscow. pp 58-59.



Instituto Murciano de Investigación
y Desarrollo Agrario y Alimentario



UNIÓN EUROPEA
Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural

"Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural: Europa invierte en las zonas rurales"

