



Tecnología Agroalimentaria

Boletín informativo del SERIDA

Número 15 - 2015

Conservación de recursos genéticos del Principado de Asturias



SUMARIO

Tecnología Agroalimentaria - SERIDA

Número 15 • 2015

Introducción

2 Conservación de recursos genéticos del Principado de Asturias

Antonio Martínez Martínez.
Carmen Díez Monforte.

16 Recursos fitogenéticos de avellano de fruto y arándano

Juan José Ferreira.
Ana Campa Negrillo.
Elena Pérez-Vega.
Guillermo García González de Lena.

Información agrícola

3 Recursos fitogenéticos de hortícolas y trigos

Ana Campa Negrillo.
Elena Pérez-Vega.
Montserrat Sanz Villaluenga.
Juan José Ferreira.

9 Recursos fitogenéticos de maíz para forraje y grano

Adela Martínez-Fernández.
Luis J. Royo.
Consuelo González.
Antonio Martínez Martínez.

20 Recursos fitogenéticos de manzano de sidra y de mesa

Enrique Dapena de la Fuente.
María Dolores Blázquez Noguero.
Mercedes Fernández Ramos.

Información forestal

27 Recursos fitogenéticos de castaño, cerezo y nogal

Marta Ciordia Ara.
Isabel Feito Díaz.
Juan Majada.



3



9



16



20



27



40

36

Tecnología de los alimentos

36

Recursos fitogenéticos de vid

M. Dolores Loureiro Rodríguez.
Paula Moreno Sanz.
Belén Suárez Valles.

40

Recursos genéticos microbianos de origen sidrero

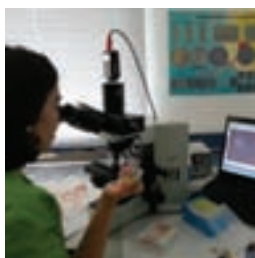
Rosa Pando Bedriñana.
Belén Suárez Valles.

Información ganadera

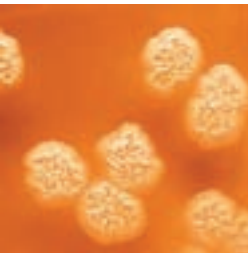
45

Recursos zoogenéticos. Banco de razas domésticas autóctonas en peligro de desaparición

Carlos O. Hidalgo Ordóñez.
Carolina Tamargo Miguel.
Ángel Fernández García.
María José Merino Hernantes.



45



Tecnología Agroalimentaria es el boletín informativo del Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), organismo público de la Consejería de Agroganadería y Recursos Autóctonos del Principado de Asturias que depende de la Dirección General de Desarrollo Rural y Agroalimentación. Este boletín de carácter divulgativo, no venal, pretende impulsar, a través de los distintos artículos que lo integran, la aplicación de recomendaciones prácticas concretas, emanadas de los resultados de los proyectos de investigación y desarrollo en curso de los distintos campos de la producción vegetal, animal, alimentaria y forestal.

Consejo de redacción: Koldo Osoro, Carmen Díez Monforte, Antonio Martínez y M^a del Pilar Oro

Coordinación editorial: M^a del Pilar Oro

Edita: Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA)

Sede central: Apdo. 13. 33300 Villaviciosa. Asturias - España

Telf.: (+34) 985 890 066. Fax: (+34) 985 891 854

E-mail: pilaroro@serida.org

Imprime: Asturgraf, S.L.

D.L.: As.-2.617/1995

ISSN: 1135-6030

El SERIDA no se responsabiliza del contenido de las colaboraciones externas, ni tampoco, necesariamente, comparte los criterios y opiniones de los autores ajenos a la entidad.

Conservación de recursos genéticos del Principado de Asturias

ANTONIO MARTÍNEZ MARTÍNEZ. Jefe del Departamento Tecnológico y de Servicios. anmartinez@serida.org

CARMEN DÍEZ MONFORTE. Jefa del Departamento de Investigación. mcdiez@serida.org

Debido al desarrollo agrícola e industrial y a la progresiva unificación de hábitos culturales y alimenticios de las últimas décadas, el número de razas y también de especies vegetales, así como la heterogeneidad dentro de los mismos, han ido descendiendo progresivamente, hasta el punto de que gran parte de la alimentación y aprovechamientos forestales están basados en la explotación de sólo unas pocas especies animales y vegetales, así como de razas y variedades.

El desarrollo de la mejora genética y la introducción de razas y variedades comerciales, uniformes y mucho más adaptadas a las técnicas modernas de producción intensiva y a los nuevos canales de comercialización, pero con una base genética muy reducida, y dejando de lado las características organolépticas o cualitativas y también las referentes a aspectos sanitarios, han acentuado la pérdida de diversidad, desplazando innumerables materiales tradicionales, heterogéneos y menos productivos, pero altamente adaptados a su ambiente local y poseedores de una gran diversidad genética y resistencia natural a patógenos, derivada de la selección natural durante siglos.

La erosión genética de los materiales locales supone una limitación de la capacidad de responder a nuevas necesidades y un incremento de la vulnerabilidad frente a cambios ambientales, climáticos o a la aparición de nuevas plagas o enfermedades.

Los recursos genéticos animales y vegetales constituyen un patrimonio de gran valor, por lo que es preciso fomentar, no

solo en la sociedad, sino también en el ámbito científico, técnico y formativo, una sensibilización sobre el valor y la necesidad de la conservación y el uso de los recursos genéticos locales de cada zona.

La conservación y recuperación de las razas ganaderas autóctonas y las variedades locales de frutas, hortalizas, cereales, especies forestales o microorganismos que intervienen en diferentes procesos de elaboración de productos, representan una oportunidad para el desarrollo de nuevos productos y tienen una incidencia positiva en la rentabilidad de las explotaciones, en un mercado donde cada vez es más importante la diferenciación de la oferta por sus características organolépticas, y su asociación a territorios concretos y a manejos sostenibles con el medio ambiente. La conservación y el uso no deben contemplarse como conceptos independientes e incompatibles, sino como complementarios y debe valorarse su contribución en diversos servicios ecosistémicos que también deberían ser cuantificados.

Así, el reto de presente y futuro no está solo en la recogida, caracterización y conservación de materiales locales, sino también en la exploración de sus posibilidades de aprovechamiento y contribución al sistema productivo, sin olvidar los aspectos medioambientales.

Consciente de ello, el SERIDA lleva desarrollando desde hace años, una actividad importante en este campo, poniendo en marcha actuaciones en diferentes áreas de trabajo que se plasman de forma resumida en los siguientes artículos de esta revista. ■



Recursos fitogenéticos de hortícolas y trigos

ANA CAMPA NEGRILLO. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. acampa@serida.org

ELENA PÉREZ-VEGA. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. epvega@serida.org

MONTSERRAT SANZ VILLALUENGA. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal.

JUAN JOSÉ FERREIRA. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. jjferreira@serida.org

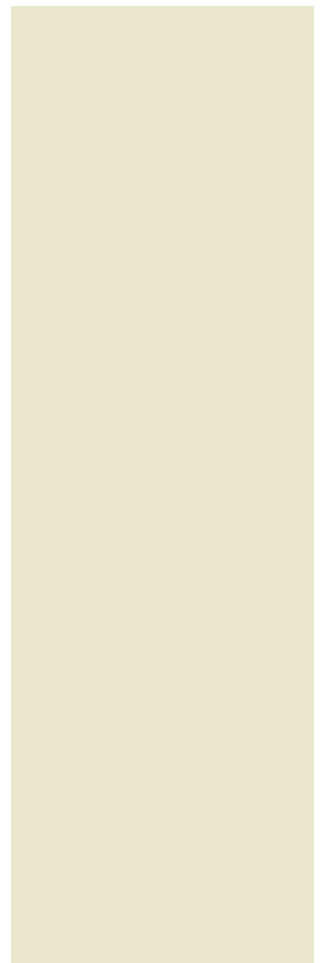
Los recursos fitogenéticos, entendidos como cualquier material de origen vegetal con valor real o potencial para la alimentación y la agricultura, son la base de la seguridad alimentaria y del desarrollo sostenible. La conservación de la biodiversidad es un motivo de preocupación social y precisa de estrategias que eviten los procesos de erosión genética como la conservación en colecciones 'ex situ'. Este texto describe el origen, el material reunido y la utilización que se ha dado a la Colección de semillas del SERIDA.

Origen de la Colección

En los años 80 del pasado siglo XX, se realizaron prospecciones de especies de multiplicación por semilla tradicionalmente cultivadas en el medio rural asturiano. La mayor parte del material recogido fue remitido, para su conservación, a otras instituciones como el Banco de Especies Hortícolas (CITA, Zaragoza) o el Centro de Recursos Fitogenéticos (CRF, INIA Madrid). En el caso de la judía (*Phaseolus vulgaris* L.) se mantuvo, además, una colección de trabajo en el SERIDA (antes Centro de Experimentación Agraria), enfocada a los tipos varietales faba granja, granjina o canelini, dado el especial interés del cultivo de esta legumbre para la región. Esta colección de trabajo inicial fue completada con prospecciones realizadas a principios de la década de los 90 por personal del SERIDA. En 1991, se instala en el SERIDA una cámara frigorífica de 25 m³ adaptada a la conservación de colecciones de semillas ortodoxas, esto es, aquellas que admiten una deshidratación sin modificar su capacidad de germinación. Los objetivos iniciales con los que se creó esta pequeña colección eran: *i*) contribuir a preservar las variedades

locales de judía, esto es, la diversidad local y, *ii*) proporcionar materiales para los programas de mejora genética de la institución, así como garantizar la conservación de las nuevas obtenciones.

En el año 1999, aprovechando los recursos y la experiencia adquirida en el manejo de colecciones de semillas, se ampliaron los objetivos iniciales abordando la conservación y caracterización de la escanda (*Triticum aestivum* spp *spelta*. en Thell.), un tipo de trigo tradicionalmente cultivado en Asturias cuya recuperación estaba siendo promovida desde varias iniciativas regionales. Se incorporó una colección de trigos asturianos a partir de una muestra de entradas que habían sido recolectadas en Asturias en la segunda mitad del siglo XX y que se conservaban en el CRF, y se completó con material reunido en recolecciones propias. En 2006, se empiezan a incorporar a la Colección entradas de especies hortícolas tradicionales en la huerta asturiana como cebollas, berzas, lechugas, calabazas, perejil, pimientos, etc, para colaborar con el desarrollo de la producción agraria ecológica en el marco de dos convenios de colaboración establecidos con otras enti-



dades regionales. Este modelo de producción agraria se encontraba, en aquellos momentos, con un limitado número de variedades, muchas de las cuales además mostraban una deficiente adaptación a las condiciones locales de cultivo. En este sentido, las variedades locales reunidas en bancos de germoplasma pueden suponer una alternativa. El material incorporado procedía de otras instituciones y fue ampliado con materiales procedentes de una reciente prospección realizada por personal del CRF en Asturias (De la Rosa *et al.* 2012). Paralelamente a esta continua incorporación de germoplasma local, la Colección de semillas se ha enriquecido con variedades comerciales y los materiales derivados de programas de mejora genética o análisis genéticos, en los que también se reúne una importante diversidad.

Material reunido en la colección

Cada muestra diferente, identificable, que se mantiene almacenada en una colección para su conservación se denomina 'entrada' o 'accesión'. Las entradas reunidas en la Colección de semillas del

SERIDA se agrupan en dos categorías atendiendo a su origen:

Germoplasma local

El término '*germoplasma local*' hace referencia al material vegetal de reproducción (semilla, estaquilla, rebrotes, polen) que tras su cultivo durante generaciones por los agricultores ha originado una variabilidad adaptada a condiciones agroclimáticas locales. En este grupo se incluyen, principalmente aquellos materiales derivados de recolecciones realizadas directamente en el medio rural. El germoplasma local de la Colección de semillas del SERIDA incluye, actualmente, 730 accesiones de 13 especies diferentes, y se agrupan en tres categorías atendiendo a las especies vegetales (Tabla 1).

La especie *Phaseolus vulgaris* L. es la más representada en la Colección, por razones históricas y por el esfuerzo en investigación que se ha desarrollado en este cultivo. En cuanto al ámbito geográfico que representa esta colección, el 82% de las entradas han sido recolectadas en Asturias, el 13% en Cantabria y el resto de entradas han sido recolectadas en comunidades del Norte de España como Galicia, País Vasco y Castilla y León.

Grupo en la Colección	Especie	Nombre común	N.º accesiones
Judías	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	judía	397
	<i>Phaseolus coccineus</i> L.	judión	10
Trigos	<i>Triticum aestivum</i> L.	escanda/trigo	88/31
	<i>Triticum turgidum</i> L.	povia	31
Hortícolas	<i>Lactuca sativa</i> L.	lechuga	55
	<i>Allium cepa</i> L.	cebolla	58
	<i>Vicia faba</i> L.	haba	8
	<i>Brassica oleracea</i> L.	berza	15
	<i>Brassica rapa</i> L.	nabo	2
	<i>Setaria italica</i> L.	panizo	2
	<i>Pisum sativum</i> L.	guisante	12
	<i>Capsicum annum</i> L.	pimiento	10
	<i>Curcubita pepo</i> L.	calabaza	8
TOTAL			730

→ **Tabla 1.**-Número de entradas de germoplasma local reunidas en la Colección de Semillas del SERIDA agrupadas en tres tipos de colecciones en función de las especies.

Stock genético

En este grupo se incluyen materiales obtenidos en programas de mejora genética, desarrollados en el SERIDA o en otras instituciones, variedades comerciales y materiales desarrollados para llevar a cabo estudios genéticos concretos. Su conservación también tiene un alto interés, pues es el resultado de trabajos de investigación y desarrollo, y constituye la base de muchos estudios y programas de mejora. Las entradas del stock genético se pueden agrupar en cuatro categorías:

- Obtenciones desarrolladas en el SERIDA:
 - Variedades comerciales inscritas en registros oficiales: 6 variedades de judía.
 - Líneas mejoradas derivadas de programas de mejora propios: 25 líneas de judía y 33 de escanda.
- Intercambios con otras instituciones: 197 líneas de judía y 6 de escanda.
- Poblaciones de líneas recombinantes, desarrolladas para investigar la herencia de caracteres de particular interés. Se mantienen tres poblaciones constituidas por una media de 100 líneas por población.
- Colección nuclear de judías del CRF, constituida por 200 entradas que re-

presentan la diversidad genética de esta especie reunida en la colección del CRF (para más detalles visitar www.inia.es/crf).

Metodología de trabajo

Para la gestión de la Colección se siguen las normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura propuestas por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2014), así como las recomendaciones de Martín (2001) y Pita y Martínez (2001). Considerando el tipo de manejo y conservación, la Colección de semillas se puede calificar como colección activa. El término '*colección activa*' hace referencia a una colección conservada a corto-medio plazo, en la que la entrada-salida de materiales para su distribución, intercambio, multiplicación o evaluación es constante, frente al término '*colección base*' que es una colección conservada a largo plazo y su función es de seguridad, para evitar pérdidas de material.

Condiciones de conservación

Las entradas reunidas en la Colección de semillas del SERIDA se conservan dentro de una cámara frigorífica para prolongar su conservación. La cámara mantiene unas condiciones de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ de tem-



←
Figura 1.-A) Interior de la cámara frigorífica donde se conserva la Colección de semillas del SERIDA. Diferentes tipos de recipientes en los que se mantienen empaquetadas las semillas.
B) Tarros de cristal herméticos conservando semillas de judía común del germoplasma local.
C) Tarros de plástico conservando semillas del stock genético.
D) Tubos de ensayo de vidrio conservando semillas de especies hortícolas.

peratura y una humedad relativa por debajo de $40\pm 10\%$. Dentro de la cámara, las semillas de entradas calificadas como germoplasma local están empaquetadas en tarros de vidrio herméticos, en el caso de las especies con semillas grandes, o en tubos de ensayo sellados en el caso de especie con semillas pequeñas. Respecto al material del stock genético, las entradas se encuentran empaquetadas en tarros de plástico (véase Figura 1). En todos los casos, las semillas son secadas para reducir su humedad antes de ser empaquetadas e incorporadas a la cámara. En nuestra experiencia, estas condiciones permiten una germinación mayor del 80% en semillas de judía durante un periodo de 10-15 años.

Multiplicaciones y regeneraciones del material

Anualmente se realiza un programa de multiplicación de las entradas reunidas en función de los niveles de existencias, de la antigüedad o del poder germinativo del material, y/o de necesidades específicas. Generalmente, las entradas son multiplicadas en campo siguiendo su ciclo de cultivo habitual en el norte de España (Figura 2). Para el desarrollo de estas multiplicaciones se tiene en cuenta el tipo de polinización de cada especie (alógama o autógena) para que las multiplicaciones afecten lo menos posible a la composición de genotipos de las entradas. Para multiplicar especies alógamas se utiliza la separación espacial junto con barreras físicas como medida para minimizar la polinización cruzada entre entradas, de manera que la capacidad máxima de multiplicación por especie alógama en las instalaciones del SERIDA es de 10-12 entradas/especie/año.

Caracterización y evaluación

La posibilidad de utilización del material reunido en una colección está relacionada con el nivel de conocimiento que se tenga de sus características o atributos. Generalmente, se consideran dos niveles de caracterización del material: i) **primaria**, que hace referencia a caracteres o atributos estandarizados y específicos de cada especie y que generalmente son muy discriminantes, de naturaleza cualitativa y poco afectados por el ambiente en su expresión; ii) **secundaria o evaluaciones**, que hace relación a caracterizaciones más específicas, como la evaluación de caracteres de interés agronómico y/o económico, muchos de los cuales muestran una gran influencia del ambiente en su expresión, así como la derivada de marcadores moleculares. Las entradas reunidas en la colección del SERIDA han sido sometidas a diferentes niveles de caracterización. Todas las multiplicaciones de material son aprovechadas para realizar una caracterización primaria apoyada con la toma de imágenes en frutos o semillas (Figura 3).

Para responder a objetivos concretos de proyectos, ciertos grupos de entradas han sido sometidos a una caracterización secundaria detallada cuyos resultados fueron publicados en diferentes trabajos científico-técnicos. Como ejemplo de estos trabajos específicos pueden citarse:

- Caracterización morfológica bajo un mismo ambiente de un juego de 180 entradas que representan la diversidad asturiana de judía reunida en la colección SERIDA. Como resultado se seleccionaron y describieron 13 variedades tradicionales



Figura 2.–Parcelas de multiplicación. **A)** Parcela de multiplicación en aislamiento espacial de una entrada de berzas y una de habas (alógamas). **B)** Parcela de multiplicación con varias entradas de judía (autógama).



en el cultivo local (véase Ferreira *et al.* 2005).

- Evaluación morfo-agronómico y de calidad de líneas del tipo faba granja obtenidas en los programas de mejora genética desarrollados en el SERIDA (Véase Ferreira *et al.* 2007).
- Evaluación de la Colección Nuclear de judías del CRF para la reacción a diferentes patógenos que causan enfermedades frecuentes en el cultivo, como la antracnosis, el moho blanco, oídio, ascochyta, etc,... (base de datos del CRF; www.inia.es/crf/).
- Evaluación morfo-agronómica de 10 entradas locales de judía con aptitud para verdeo con objeto de valorar su adaptación a la producción ecológica.
- Evaluación morfo-agronómica de seis líneas pre-seleccionadas de escanda obtenidas en el SERIDA para identificación de potenciales variedades comerciales.

Documentación de la colección

Para una eficiente gestión y utilización de la Colección, los datos reunidos para cada entrada se mantienen correctamente documentados y actualizados. Hay diferentes niveles de complejidad en la documentación de las colecciones, pero todas ellas disponen de 'datos de pasaporte' esto es, datos relevantes tomados en la recolección de cada entrada como la fecha y lugar de recolección, coordenadas GPS, clasificación taxonómica de la especie, tipo de cultivo, etc... Los datos de pasaporte de la Colección de semillas del SERIDA en lo que se refiere a germoplasma local están disponibles en el Inventario Nacional (bases de datos del CRF, www.inia.es/crf/). Otro nivel de documentación son los datos relativos a la gestión de la colección como antigüedad, existencia, posición en la cámara, tipo de empaquetado o porcentaje de germinación. Finalmente, otro nivel de documentación son los datos derivados de las caracterizaciones y evaluaciones. Estos dos últimos niveles de documentación se encuentran reunidos en base de datos internas del SERIDA.

Duplicación de la colección

La duplicación de material en diferentes colecciones es una estrategia de con-



servación a largo plazo que minimiza el riesgo de pérdida accidental del material. Así, las multiplicaciones realizadas para regenerar la colección del SERIDA han sido aprovechadas para enviar un duplicado a la colección del CRF, Centro en el que se mantiene la colección base de semilla ortodoxas de la Red Española de Colecciones de Semilla (BOE 7 mayo 1993). El nivel de duplicación de la Colección de semillas del SERIDA es, actualmente superior al 90% del germoplasma local. El CRF también mantiene en colecciones activas algunas especies y distribuye sus entradas bajo determinadas condiciones y previa solicitud (www.inia.es/crf/).

Utilización de las colecciones y perspectivas de futuro

Con la creación de la Colección se ha buscado contribuir a la preservación de la diversidad genética de las especies reunidas y apoyar al desarrollo de nuevas variedades que aporten soluciones a proble-

↑
Figura 3.—Ejemplos de diversidad de fruto de algunas de las entradas que se han regenerado en el SERIDA de
 A) *Capsicum annum* L.,
 B) *Curcubita pepo* L.

mas en los cultivos locales. En lo que concierne a la conservación de la diversidad local, la Colección ha contribuido a la preservación de las variedades locales, parte del patrimonio cultural de la sociedad asturiana, tanto con su mantenimiento y estudio en el SERIDA como con su duplicación en las colecciones del CRF. En lo que respecta al desarrollo de nuevas variedades, los primeros trabajos de prospección, conservación y utilización dentro del tipo varietal faba granja asturiana contribuyeron significativamente a la descripción del tipo comercial fabada y a la selección de las primeras variedades comerciales como la variedad Andecha (Fueyo y Goicoechea 1989). Así mismo, la colección proporcionó las fuentes de caracteres para la obtención de nuevas variedades dentro del tipo faba asturiana, como las variedades comerciales Cimera, Xana, Sinara, Maximina y más recientemente Maruxina. Por ejemplo, el carácter hábito de crecimiento determinado introducido para generar la variedad Xana fue tomado desde la entrada V203 del germoplasma local (Ferreira *et al.* 2007). Además, en la colección se reúne un amplio stock genético fruto de programas de mejora o estudios genéticos. Este stock genético incluye las variedades desarrolladas y liberadas cuya conservación en las mejores condiciones de pureza varietal y calidad sanitaria es responsabilidad de la institución obtentora. Similarmente, en trigos, la Colección proporcionó la variación de partida para el desarrollo de una colección de líneas homocigotas de escanda seleccionada para minimizar algunos de los problemas del cultivo, como la ambigua definición de la escanda asturiana, la heterogeneidad de las poblaciones usadas en las siembras y la alta tendencia al encamado en las fase finales del cultivo. De esta colección de líneas se han preseleccionado tres que actualmente están en fase de registro como variedades comerciales.

En suma, desde su puesta en marcha, la Colección de semillas del SERIDA ha estado en continua evolución contribuyendo a muchos de los avances y logros realizados en las tres últimas décadas. La intensidad en su uso, así como la mejora de esta Colección en el futuro, dependerán de las líneas de investigación que se prioricen y de los recursos disponibles.

En todo caso, como actor en la conservación y utilización de los recursos fitogenéticos locales, debería jugar un papel estratégico para el desarrollo de una producción agraria regional sostenible y de calidad.

Proyectos financiados

En el periodo 1994-2013, la gestión de esta colección ha estado financiada a través de sucesivas convocatorias de proyectos de investigación incluidos en los 'Programas de conservación y utilización de recursos genéticos' del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, INIA (RF94-031; RF95-008-C4-3; RF99-003-C3; RF03-024-C6-3; RFP04-0013-00-00; PC06-043; RF07-00014-C04; RFP2009-00010-00-00; RF2010-00005-C05-02).

Referencias bibliográficas

- DE LA ROSA, L.; PELUZZO, A., GARCÍA, R. M.; BERRIO, F. J.; LARREINA, J. R.; MARTÍN, I.; LÓPEZ-CEPERO, P.; MEANA, A. 2012. Recolección y conservación de variedades locales de especies cultivadas en el Principado de Asturias. *Actas de Horticultura* 62:57-58.
- FAO. 2014. Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Edición revisada, Roma.
- Ferreira, J. J.; Campa, A.; Pérez-Vega, E. 2005. Conservación y utilización de variedades tradicionales de faba en Asturias: Colección activa del Principado de Asturias. SERIDA KRK Ediciones.
- Ferreira, J. J.; Pérez-Vega, E.; Campa, A. 2007. Nuevas variedades de judía tipo Faba Granja desarrolladas en el SERIDA: resultados de las evaluaciones morfológicas, agronómicas y de calidad. SERIDA KRK Ediciones.
- FUEYO, M. A.; GOICOECHEA, P. G. 1989. La faba granja asturiana (*Phaseolus vulgaris* L. variedad granja). Valoración y características de la calidad. *Información Técnica* 1/89.
- MARTÍN, I. 2001. Conservación de recursos fitogenéticos. Hojas divulgadoras N.º 2114 HD. Ministerio de Agricultura, Madrid.
- PITA, J. M.; MARTÍNEZ, J. B. 2001. Bancos de Semillas. Hojas Divulgadoras N.º 2109HD, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ministerio de Agricultura, Madrid. ■

Recursos fitogenéticos de maíz para forraje y grano

ADELA MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ. Área de Nutrición, Pastos y Forrajes admartinez@serida.org

LUIS J. ROYO. Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. lroyo@serida.org

CONSUELO GONZÁLEZ. Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. cgonzalez@serida.org

ANTONIO MARTÍNEZ MARTÍNEZ. Jefe del Departamento Tecnológico y de Servicios. anmartinez@serida.org



←
Figura 1.Alguna de las poblaciones locales de maíz recuperadas a lo largo de la geografía asturiana y pendientes de evaluación.

Introducción

El maíz es una de las muchas especies importadas a Europa tras el descubrimiento de América. En Galicia y en la Cornisa Cantábrica se adaptó muy bien a la climatología y, dado su alto rendimiento, su explotación se fue extendiendo hacia toda Europa. Podemos decir que el cultivo del maíz fue causa y consecuencia de la revolución industrial de la agricultura. Aumentó el rendimiento de la superficie cultivada y permitió la estabulación de los animales, que empezaron a ser alimentados con piensos, mientras producían el estiércol necesario para abonar los cultivos, constituyendo desde entonces una parte muy importante de la dieta tanto humana como animal en Europa. En la

actualidad, prácticamente todo el maíz cultivado en las zonas templadas desarrolladas del planeta es **maíz híbrido**, resultante del cruzamiento de dos líneas puras. Los primeros híbridos europeos de maíz grano se produjeron en la Misión Biológica de Galicia en 1928, aunque su cultivo tardó varias décadas en generalizarse y con el paso del tiempo estos maíces para grano fueron convirtiéndose paulatinamente en maíces para forraje. En la actualidad el INRA (Institute National de la Recherche Agronomique), entidad pionera en la investigación sobre mejora genética en híbridos de maíz, lleva a cabo sus investigaciones manteniendo como criterio prioritario la obtención de variedades con un alto contenido en almidón, pero, sobre todo, orientadas a in-

crementar la digestibilidad de la parte verde de la planta, concretamente buscando una mejora de la digestibilidad por disminución de la cantidad de fibra no digestible. Todas esas variedades comerciales se han obtenido pensando en producción convencional y, por tanto, no contemplan entre sus requisitos características como **rusticidad** y **adaptación al medio ambiente**, sumamente importantes en la agricultura ecológica.

El cultivo de maíz en condiciones ecológicas, aunque está en una situación incipiente, es una alternativa prometedora y es previsible que aumente su demanda en los próximos años, tanto para la producción de forrajes y piensos para alimentación animal ecológica, como para la producción de alimentos humanos directos (maíz dulce, maíz de palomitas y harina de maíz). En este sentido, tanto en el maíz como en los demás cultivos, actualmente se tolera provisionalmente el uso de semilla obtenida en agricultura convencional para las explotaciones ecológicas, pero la práctica ortodoxa de la agricultura ecológica requiere la utilización de semilla producida en condiciones ecológicas. De hecho, las normas que regulan la producción ecológica (Reglamentos CE N.º 834/2007 y 889/2008), marcan como objetivo el empleo de **semillas locales** en los distintos cultivos, independientemente del uso al que vayan a ser destinadas (alimentación animal o humana). Por tanto, es necesario explorar al máximo las posibilidades de encontrar **poblaciones autóctonas de especies como el maíz, adaptadas a las distintas zonas de cultivo**.

Poblaciones locales de maíz en Asturias

La domesticación del maíz debió tener lugar en México alrededor de 5.000 años a.C., hecho que avalan tanto estudios arqueológicos, como la presencia de teosintes silvestres en esa zona. En las tierras altas de Perú, debió ocurrir un segundo centro de domesticación, entre los años 450 y 1.500 a.C., aunque no sería hasta el primer milenio a.C. cuando aparecieron maíces más vigorosos, producidos probablemente por cruzamientos con teosintes silvestres, que irían poco a

poco desplazando a los cultivos iniciales. La gran diversidad del maíz, que se extendía por todo el continente americano, desde Chile a Canadá, y se cultivaba desde las altas cordilleras alpinas hasta el nivel del mar, se explica por su reproducción alógama y por el cruzamiento de poblaciones de diferentes procedencias.

Según referencias históricas, las primeras semillas de maíz llegaron a Asturias, concretamente a Tapia de Casariego en el siglo XVII, traídas del continente americano por el Gobernador de Florida Gonzalo Méndez de Cancio. Este maíz se cultivó en comunidades cerradas y lugares apartados durante siglos, sin riesgo de contacto con los maíces híbridos introducidos a mediados del siglo XX, y se fue adaptando progresivamente a unas determinadas zonas geográficas, consiguiendo **rusticidad y adaptación al medio ambiente** para resistir condiciones de estrés, plagas y enfermedades endémicas.

La recolección sistemática de poblaciones locales de maíz cobró gran importancia a mediados del siglo pasado ante la evidencia de la sustitución de las poblaciones locales por los híbridos americanos, lo que implicaba pérdidas irreversibles de recursos fitogenéticos, y el consiguiente aumento de la vulnerabilidad de los cultivos con estrecha base genética. Este empeño resultó en una proliferación de colecciones de germoplasma que, con frecuencia, no se conservaban ni multiplicaban debidamente. En España, las poblaciones locales de maíz recuperadas están conservadas mayoritariamente en bancos de germoplasma procedentes de prospecciones realizadas en los años 70. Además, hay otras poblaciones conservadas por los agricultores que, por su aislamiento geográfico y correcto manejo histórico, se consideran suficientemente protegidas de contaminación por híbridos comerciales. También se encuentran regiones que, por sus singulares condiciones e historia, contienen recursos fitogenéticos insuficientemente recolectados y estudiados pero con elevado interés potencial, tales como el archipiélago Canario o Asturias.

En el caso concreto de Asturias, diversas poblaciones locales de maíz se conservan en diferentes bancos de germo-

plasma. Sin embargo, la recolección de las poblaciones no ha sido hecha de forma sistemática, por lo que es de prever que haya algunas zonas muestreadas en exceso y otras insuficientemente. Aún hoy, existen áreas en las que no se han recolectado los recursos genéticos de maíz porque se trata de cultivos residuales en explotaciones pequeñas, sin importancia económica para los agricultores, aunque, se continúan cultivando poblaciones locales debido a su empleo en la elaboración de productos típicos. La situación y orografía de la región hace que tenga unas condiciones ambientales muy heterogéneas, donde es de esperar una amplia diversidad entre las poblaciones locales recolectadas. Por tanto, hace falta conocer el origen geográfico exacto de todas las poblaciones asturianas que se conservan en las distintas colecciones, para identificar las zonas insuficientemente muestreadas.

La diversidad morfológica de algunas de las poblaciones recuperadas a lo largo de la geografía asturiana se puede apreciar en la Figura 2.

Por otra parte, la mejora genética que se aplica a los híbridos también podría aplicarse a las poblaciones locales, dirigida específicamente a conseguir aumentos de rendimiento que den como resultado variedades competitivas con los híbridos comerciales en las condiciones de producción ecológicas. Estas poblaciones locales una vez mejoradas podrían ser cultivadas por los agricultores durante varios años sin experimentar grandes pérdidas de rendimiento y paliando los principales problemas del cultivo de híbridos, ya que los caracteres a mejorar tienen una estructura genética que permite su mejora eficaz.

Además, de igual manera que se han obtenido maíces híbridos con aptitud para grano y para forraje, las poblaciones locales del Norte y Noroeste de España pueden diferir en su aptitud para ambas producciones, e incluso en las características del grano. En concreto, **las poblaciones locales de maíz asturianas** han sido empleadas tradicionalmente para alimentación animal y humana. Algunas de estas poblaciones locales pueden ser aptas para producir forraje con destino a en-

silado, otras pueden tener aptitud de cereal grano para industria de elaboración de alimentos compuestos para animales y otras ser aptas para su uso en la industria harinera para panadería y repostería típicas. Por otro lado, la producción de maíz autóctono para consumo humano en condiciones de agricultura ecológica puede ser una interesante alternativa para paliar el progresivo abandono de las explotaciones tradicionales que, además, responde a una demanda social de productos autóctonos y de mayor seguridad alimentaria. Además, la conservación de recursos locales permite recuperar tradición y aspectos culturales en desuso. Pero, antes de plantearse un proceso de mejora genética, se necesita llevar a cabo una **caracterización y evaluación** tanto morfológica como agronómica de las poblaciones locales recuperadas, que permita la elaboración de un catálogo de variedades locales de maíz potencialmente útiles para alimentación animal y/o humana en el marco de la producción ecológica.

Descripción de los ensayos de evaluación y caracterización de poblaciones locales de maíz asturiano

Desde el año 2007, dentro del Programa de Investigación sobre Pastos y Forrajes del Servicio Regional de Investigación

↓
Figura 2.-Poblaciones locales de maíz recuperadas en prospecciones realizadas en varios puntos de la geografía asturiana.



y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), se están realizando prospecciones y recuperación de material de poblaciones locales de maíz en varios puntos de la geografía asturiana, con el propósito de obtener información científica y técnica sobre:

- Diversidad del germoplasma de maíz asturiano: lo que ensanchará la base genética disponible para mejorar la adaptación a zonas templado-húmedas y la resistencia a factores ambientales adversos como plagas y enfermedades endémicas.
- Variabilidad de los ambientes en los que se cultiva maíz en Asturias: información complementaria a la anterior para proporcionar una idea de la singularidad de la colección.
- Valor potencial del maíz asturiano para su cultivo en agricultura ecológica: información útil para los mejoradores y agricultores que busquen variedades adecuadas para su modalidad de producción.
- Valor potencial del maíz asturiano para producción forrajera: información útil para los mejoradores que busquen fuentes de alelos favorables para la utilización de la planta entera de maíz en la alimentación del ganado.

– Valor potencial del maíz asturiano para producción de harina panificable: información útil para los mejoradores que busquen fuentes de alelos favorables para molinería y elaboración de productos artesanales.

Con esta actividad se pretende construir la **colección asturiana de poblaciones de maíz autóctono** e identificar las mejores poblaciones locales de maíz para usos forrajero y panadero, así como aportar estrategias y directrices para la producción de maíz enfocada hacia las necesidades de la agricultura ecológica.

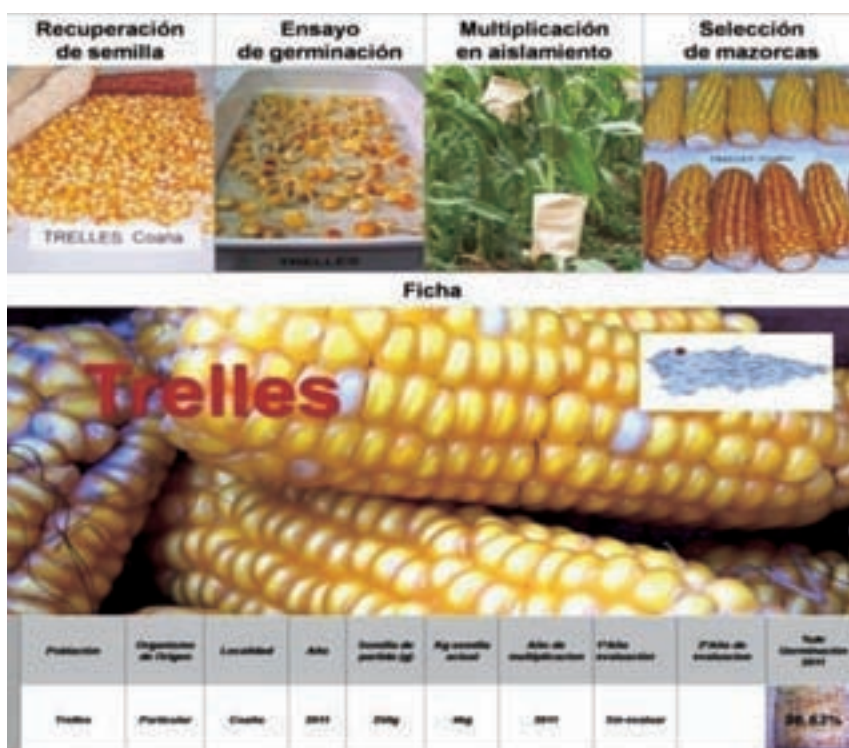
Hasta el momento se ha recuperado semilla de un total de **27 poblaciones locales**, de las cuales se han evaluado un total de 19.

Una vez recuperadas las poblaciones, se procede a realizar **ensayos de germinación** en condiciones controladas de temperatura y humedad para evaluar la viabilidad de las semillas.

En los casos en que la muestra obtenida de una determinada población procedente de los bancos de germoplasma o de las prospecciones realizadas resulte insuficiente, se procede a su **multiplicación en condiciones de aislamiento** con el fin de disponer de semilla en cantidad suficiente para los posteriores ensayos de caracterización y evaluación. Los ensayos de multiplicación se realizan en condiciones de manejo ecológico, siguiendo el método habitual consistente en sembrar al menos 150 granos para hacer todos los cruzamientos posibles de parejas de plantas, de modo que cada planta pueda actuar como macho o como hembra una sola vez. Dado que el número de poblaciones a multiplicar resulta elevado, el ensayo de multiplicación de semilla, se fracciona a lo largo del marco temporal previsto, continuando en el momento actual.

Posteriormente se procede a **seleccionar las mejores mazorcas de cada población** obtenidas en el ensayo de multiplicación, entre las que presentan una buena conformación y están ausentes de daños, para finalmente recuperar su semilla, parte de la cual se conserva como reservorio genético, y otra parte se

↓
Figura 3.-Actividades previas a la realización de los ensayos de evaluación y caracterización.



utiliza en los ensayos de caracterización morfológica de planta, mazorca y grano, y de evaluación de aptitud forrajera y de producción de grano.

Con esta información, para cada variedad local recuperada se confecciona una ficha, en la cual se va incorporando progresivamente toda la información disponible sobre la misma: fotografías disponibles, lugar de procedencia incluyendo coordenadas geográficas para su localización, ciclo FAO al que pertenece, resultados de los ensayos de germinación, disponibilidad de semilla, cantidad de la misma, fecha de las evaluaciones realizadas y características recogidas en los ensayos relativos a la planta entera, mazorca y grano, así como cualquier otra información considerada de interés.

En la figura 3 se puede ver una descripción de de las actividades descritas correspondiente a una de las poblaciones locales recuperadas.

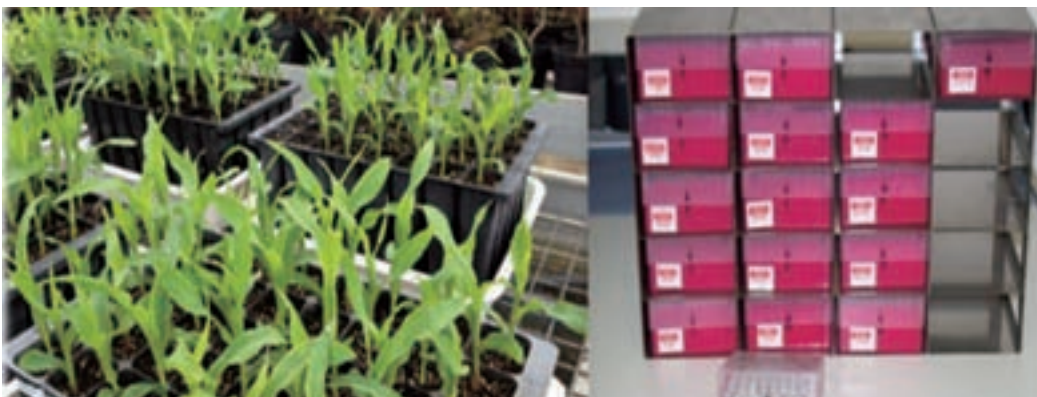
Paralelamente y con el propósito de conocer **su singularidad y establecer las relaciones filogenéticas existentes entre las poblaciones recuperadas**, se pretende genotipar la colección de poblaciones locales recuperadas con una batería de marcadores genéticos.

Se utilizarán como testigo, otras poblaciones de la Península Ibérica y de las tierras altas de México, consideradas estas últimas como origen de la domesticación del maíz. Para ello, se seleccionan 10 semillas representativas de cada una de las poblaciones recuperadas. Estas semillas se siembran en condiciones

adecuadas de germinación, hasta alcanzar el estadio de 3 hojas y unos 10 cm de altura. En este momento se recogen, se identifican adecuadamente y se almacenan a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su posterior análisis. A partir de hoja verde tierna se extrae el ADN utilizando para ello el Kit comercial GeneMATRIXPlant&Fungi DNA Purification Kit (EURx) y se conserva a 4°C , constituyendo el banco de germoplasma de maíz local del Principado de Asturias (Ver Figura 4).

El siguiente paso en el proceso de caracterización de estas poblaciones locales es realizar la siembra (Ver Figura 5). Esta se realiza en una parcela con historial previo de aprovechamiento bajo los requerimientos de la producción ecológica y cuya extensión permite que el ensayo esté alejado de zonas de influencia de cultivo de híbridos comerciales de maíz, para evitar posibles cruzamientos. Se siembran cuatro 4 surcos con 25 granos por surco de cada población a caracterizar, a una dosis inicial equivalente a 90.000 semillas/ha, pero buscando una densidad final más baja, para facilitar la toma de datos, que se consigue con un aclareo cuando las plantas alcanzan los 20 cm de altura.

Los ensayos de evaluación realizados hasta el momento se realizaron en 2008 y 2011 utilizando un diseño aumentado con cuatro repeticiones incluyendo en el campo de evaluación algún testigo procedente de poblaciones mejoradas y/o híbridos comerciales para actuar como testigos indicadores del ciclo de cultivo. Concretamente, en estos ensayos se utilizó como testigo el híbrido comercial de ciclo corto "Pollen", que previamente había sido evaluado con buenos resultados



←
Figura 4.-Estado vegetativo del maíz para la extracción de ADN y constitución del banco de germoplasma.



↑
Figura 5.-Campo de evaluación de poblaciones locales de maíz en manejo ecológico en Grado (zona interior baja de Asturias).

en la misma zona del ensayo "Zona interior baja de Asturias" en los ensayos de evaluación de variedades comerciales de maíz que el SERIDA viene realizando desde 1996.

La toma de datos correspondiente a los **descriptores morfométricos** de todas las poblaciones sembradas se realiza en el periodo comprendido entre los estados fenológicos de floración de las plantas de maíz y maduración del grano, utilizando los descriptores primarios y secundarios pertinentes propuestos por el Internacional Plant Genetic Resources Institute de México (IPGRI, 1991).

Para la preselección de las poblaciones con mejores aptitudes, tras los procesos de recuperación, multiplicación, caracterización y evaluación se realiza un seguimiento del cultivo y se toman datos de:

- Producción forrajera (en t de materia seca por ha).
- Relación peso seco mazorca/planta en estado de cosecha forrajera.
- Rendimiento de mazorca en peso seco.
- Rendimiento de grano.
- Humedad del grano.
- Estado sanitario.

Para la evaluación y control de parámetros de aptitud forrajera (producción y contenido en principios nutritivos) y producción de grano, se realizan los siguientes controles:

- Vigor de establecimiento.
- Fecha de aparición de estilos.
- Número de plantas.
- % de plantas caídas.
- % de plantas con el tallo partido por debajo de la espiga.
- Altura de las plantas.
- Altura de la inserción de la mazorca principal.
- Presencia de plagas.
- Presencia de enfermedades.

Las muestras recogidas para el control de producción forrajera se homogeneizan y se toman submuestras para la determinación de sus principios nutritivos. Estas muestras una vez secas y molidas, son analizadas en el laboratorio de Nutrición Animal del SERIDA, para determinar materia seca final, cenizas, proteína bruta, fibra neutro detergente y su digestibilidad con celulasa, almidón y estimación de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica, energía metabolizable y UFL por kg de materia seca cosechada.

Previsiones de futuro

Hay que tener en cuenta que la caracterización y mantenimiento de la Colección del SERIDA de poblaciones de maíz autóctono se considera una actividad continua, y que los técnicos del SERIDA, en colaboración con agricultores locales, están constantemente en busca de nuevas poblaciones para ser añadidas al banco. En este trabajo se presenta el protocolo de trabajo establecido por el Área de Nutrición Pastos y Forrajes del SERIDA para la evaluación y caracterización de las poblaciones locales de maíz. Hasta el momento hay 19 poblaciones evaluadas. Existen otras ocho variedades incorporadas al banco, y, alguna más está en estos momentos en fase de estudio para ser incorporada. El primer paso futuro será la multiplicación de estas poblaciones en condiciones de aislamiento y manejo



ecológico con el fin de disponer de semilla en cantidad suficiente para los posteriores ensayos de caracterización y evaluación. Posteriormente se caracterizarán y evaluarán, siguiendo el protocolo establecido.

De la misma manera, se completará el banco de germoplasma y ADN con tejido verde de plantas en estadio de 3 hojas y unos 10 cm de tamaño, y el ADN de 10 individuos de cada población. A partir de este material genético, se pretende genotipar las poblaciones con una batería de 15 marcadores neutros (no sometidos a selección) para establecer las relaciones filogenéticas entre ellas, identificar poblaciones singulares, y determinar la proporción de migrantes entre parejas de poblaciones. Una vez obtenida y estudiada toda la información disponible, se pretende establecer:

- Una descripción de cada una de las poblaciones locales en cuanto a su valor potencial en agricultura ecológica, para producción forrajera y/o para producción de harina panificable.
- Un ranking de las poblaciones teniendo en cuenta las prioridades de conservación.

Asimismo, se pretende determinar la calidad harinera de cada población en estudio, para lo cual se determinarán los parámetros de: densidad, prueba de molido y, rotura de pericarpio.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a todas las personas que han contribuido a la recuperación de las semillas. Al personal de campo del SERIDA de Grado. Al personal técnico del laboratorio de Nutrición del SERIDA de Villaviciosa y a Alfonso Carballal Samalea por el apoyo informático.

Referencias bibliográficas

- ALONSO FERRO, R. C.; MALVAR, R. A.; REVILLA, P.; ORDÁS, A.; CASTRO, P.; MORENO GONZÁLEZ, J. 2008. Genetics of quality and agronomic traits in hard endosperm maize. *Journal of Agricultural Science*, 146, 551-560.
- ARGAMENTERÍA, A.; CARBALLAL SAMALEA, A.; GONZÁLEZ GARCÍA, C.; MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, A.; DE LA ROZA DELGADO, B.; SOLDADO CABEZUELO, A.; MODRÑO LOZANO, S. 2013. Variedades de maíz. Actualización año 2012. Informe Técnico. SERIDA. 33 pp.
- BOUZA-BREY, F. 1953. Noticias históricas sobre la introducción del cultivo del maíz en Galicia. *Bol. Real Academia Historia*, 132:35-72.
- IPGRI. 1991. Descriptores para maíz. International Plant Genetic Resources Institute, Mexico.
- KATO, T. A.; MAPES, C.; MERA, L. M.; SERRATOS, J. A.; BYE, R. A. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 116 pp. México, D.F.
- MALVAR, R. A.; REVILLA, P.; MORENO-GONZÁLEZ, J.; BUTRÓN, A.; SOTELO, J.; ORDÁS, B. 2008. White maize: genetics of quality and agronomic performance. *Crop Science*, 48:1373-1381.
- MARTÍNEZ FERNÁNDEZ, A.; VANEGAS RUÍZ, J. L.; ARGAMENTERÍA, A.; MARTÍNEZ MARTÍNEZ, A. 2011. Tecnologías del cultivo de millo forrajero en producción ecológica e convencional. *Afriga* 91: 54-60.
- MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, A.; GONZÁLEZ GARCÍA, C. 2013. Poblaciones locales de maíz en Asturias para forraje y grano. *Afriga*: 90-96.
- MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, A.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, A. 2014. Evaluación de poblaciones locales de maíz en Asturias. Resultados para forraje y grano. *Afriga*: 109, 98-104.
- ORDÁS, A. 2003. Cruz Gallástegui, pionero de la mejora genética de plantas. En: *Los orígenes de la mejora genética en España. Sociedad Estatal de Conmemoraciones Culturales S.A.* Pp 299-326. Edita: M. Candela (Madrid).
- PIPERNO, D.R.; RANERE, A. J.; HOLST, I.; IRIARTE, J.; DICKAU, R. 2009. Starch grain and phytolith evidence for early ninth millennium BP maize from the Central Balsas River Valley, Mexico. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 5019-5024.
- REGLAMENTO (CE) n.º 834/2007 DEL CONSEJO de 28 de junio de 2007 sobre producción y etiquetado ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CEE) n.º 2091/91.
- REGLAMENTO (CE) n.º 889/2008 DE LA COMISION de 5 de setiembre de 2008 por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) n.º 834/2007 del Consejo sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, con respecto a la producción ecológica, su etiquetado y su control.
- RUÍZ DE GARRALETA GÓMEZ, J. I. 1992. Agrupación de poblaciones locales de maíz (*Zea mays*, L.) mediante caracteres morfológicos y parámetros ambientales. Tesis Doctoral. Servicio de publicaciones, Universidad de Lleida (España). 161 pp. ■





Recursos fitogenéticos de avellano de fruto y arándano

JUAN JOSÉ FERREIRA. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. jjferreira@serida.org
ANA CAMPA NEGRILLO. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. acampa@serida.org
ELENA PÉREZ-VEGA. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. epvega@serida.org
GUILLERMO GARCIA GONZÁLEZ DE LENA. Área de Experimentación y Demostración Agroforestal. ggarcia@serida.org

El avellano de fruta es un cultivo tradicional en Asturias, mientras que el arándano es un cultivo emergente con enorme potencial para toda la Cornisa Cantábrica. Este texto describe el origen, el material reunido y las perspectivas de utilización de las Colecciones de campo de avellano y arándano reunidas en el SERIDA.



Figura 1.-Vista de la colección de campo de avellanos del SERIDA tomada en el verano de 2014.

Origen de las colecciones y materiales reunidos

En Asturias el avellano (*Corylus avellana* L.) crece espontáneamente (formas silvestres) o se cultiva por los agricultores, principalmente en las orillas de los ríos o en los bordes de las parcelas. Los trabajos en el SERIDA con esta especie arrancan a mediados del siglo XX con la recogida de alguna variedad o ecotipo local, y con es-

tudios para la modernización del cultivo (Álvarez-Requejo 1965). Las variedades locales Casina, Espinaredo, Quirós y Amandi, derivadas de estos trabajos pioneros, junto con 20 variedades comerciales de diverso origen, fueron instaladas en una parcela de Villaviciosa en el año 1991 para valorar su adaptación a las condiciones locales del cultivo. En el periodo 2003-2005 se realizó una prospección por todo Asturias en colaboración con personal de Mas de Bover-IRTA (Reus, Ta-



rragona), institución en la que se localiza el Banco Nacional de Frutos Secos. En total, se estudiaron 91 ejemplares de 21 concejos y 41 localidades asturianas. Considerando las características de fruto, ubicación y estado, se seleccionó un grupo de estos árboles para ser conservados y evaluados en detalle. Para ello, primero se recogieron brotes que fueron injertados en patrón franco y, posteriormente, se realizaron propagaciones vegetativas mediante la producción de acodos. Por último, dos clones derivados de cada árbol injertado se incluyeron en una colección de campo para su conservación y estudio bajo las mismas condiciones ambientales. Actualmente, la colección de avellanos del SERIDA reúne un total de 63 entradas: 18 variedades comerciales derivadas de la colección plantada en 1991 (Grande o Barcelona, Negret, Tonda Romana, Segorbe, Ennis, Gironell, S. María de Gesú, Daviana, Morell, Mortarella, Tombul, Tonda Gifoni, Camponica, Puetet, Kilankara, Ribet, Butler, Royal), 38 entradas derivadas de la prospección 2003-2005, 3 entradas locales de Cantabria y las variedades locales asturianas Casina, Espinaredo, Quirós y Amandi. Además, en la parcela todavía se conservan los árboles originales de estas cuatro variedades locales.

En Asturias crece de forma silvestre una especie de arándano (*Vaccinium*

myrtilus L.). Sin embargo, todas las especies cultivadas proceden de selecciones desarrolladas a partir de varias especies silvestres americanas como *Vaccinium corymbosum* L., *V. ashei* Reade, sinónimo de *V. virginatum*, y *V. agustitifolium* Ait. En Asturias, y muy probablemente en toda España, la primera plantación experimental fue realizada por la Diputación Provincial hace unos 50 años en el concejo de Tineo. Los trabajos del SERIDA en esta especie se iniciaron a mediados de los años 80 del siglo pasado, y las primeras explotaciones comerciales aparecen en Asturias y Galicia a finales de esa década, aunque ha sido en los últimos años cuando su cultivo ha suscitado un creciente interés. Las plantaciones actuales se basan en un limitado juego de variedades como Duke, Bluecrop, Bluegold, Chandler, Liberty, Aurora, Elliott, y Ochlockonee para cubrir un amplio periodo de producción. En el año 2010 en el SERIDA se comienza a reunir una colección de variedades comerciales de arándano con el objeto de evaluar su comportamiento y adaptación a las condiciones locales, así como servir de soporte a programas de mejora genética. Las variedades fueron obtenidas en viveros, dado que se trata de una especie de reciente domesticación e introducción en Europa y no es probable encontrar variedades locales derivadas de una larga interac-

↓
Figura 2.-A) Propagación vegetativa de avellano mediante acodos.
B) Propagación vegetativa de arándano mediante estaquillado.



ción entre el medio y el agricultor. La colección reúne, actualmente, un total de 84 entradas que incluyen variedades de las especies *V. corymbosum* o *V. ashei* y variedades élite derivadas de híbridos interespecíficos. Esta colección incluye variedades de los diferentes tipos agronómicos: arándano alto ('highbush blueberry') con altos ('northern highbush') o bajos requerimientos en frío ('southern highbush'), arándano tipo ojo de conejo ('rabbiteye blueberry') y arándanos bajos ('lowbush blueberry').

Condiciones de conservación

El avellano y el arándano son especies leñosas de polinización cruzada o alógama, por lo que los descendientes obtenidos a partir de las semillas producidas por una planta no conservan la totalidad de las características o atributos de aquella. Además, las semillas de avellano son recalcitrantes y no toleran bien su desecación para su conservación a largo plazo en frío como colecciones de semillas. Por todo ello, la mejor forma de preservar la identidad de estas variedades es mediante clonación o propagación vegetativa, lo que equivale a realizar copias exactas del árbol. El avellano, permite una reproducción vegetativa mediante injertos o acodos, mientras que

las especies de arándano cultivado permiten una reproducción vegetativa mediante injertos, estaquillas o micropropagación (Figura 2). Debido a las particularidades de propagación de estas especies leñosas, el modelo para conservar las variedades o genotipos es mediante el establecimiento de colecciones *ex situ* en colecciones de germoplasma de campo, en las que varias plantas vivas de cada entrada son cultivadas y mantenidas en una parcela.

Las entradas que constituyen las colecciones de avellano y arándano del SERIDA se mantienen en sendas colecciones de campo ubicadas en las instalaciones del SERIDA, siguiendo las Normas para Bancos de Germoplasma (FAO 2014). La colección de avellanos se conserva en una parcela de campo de unos 1500 m² en la que se conservan dos ejemplares por accesión o variedad formados en un eje y en un marco de plantación es 2 x 4 m (Figura 1). Así mismo, se conserva un duplicado de las 38 accesiones locales en el Banco Nacional de Frutos Secos para garantizar su preservación. La colección comenzó a ser instalada en 2008 y las últimas reposiciones se realizaron en el invierno de 2013. En lo que respecta a la colección de arándanos, el material se conserva en el SERIDA por duplicado. Por un lado, se



Figura 3.-Vista de la colección de campo de arándanos del SERIDA tomada en primavera 2015.

- A) Colección en contenedores de 16 l.
B) Colección en suelo.



conservan 2-4 ejemplares de cada accesión en contenedores de 16 l a corto plazo (colección en vivero). Así mismo, y para una conservación y caracterización a largo plazo, dos ejemplares de cada entrada se conservan en una parcela con un marco de plantación de 1 x 2,7 m, con instalación de riego y líneas acolchadas (colección de campo). En las colecciones de arándano, las plantas se cultivan sobre sustrato de corteza de pino para garantizar los requerimientos de pH de estas especies (véase Figura 3). Las primeras accesiones de colección de campo de arándano se instalaron en invierno de 2011 y las últimas 14 accesiones fueron trasplantadas en invierno en 2015.

Las colecciones de campo de avellano y arándano son mantenidas con los cuidados culturales habituales, que incluyen podas regulares, abonados, desbrozado y control de plagas y enfermedades. También la colección de arándano se rejuvenece periódicamente mediante una propagación vegetativa de las accesiones por estaquillas (Figura 2) para minimizar riesgos de pérdida de alguna entrada por accidentes, enfermedades o plagas.

Utilización de las colecciones y perspectivas de futuro

La constitución de ambas colecciones persigue contribuir a la preservación de la diversidad genética de estas especies y apoyar al desarrollo de nuevas variedades que aporten soluciones a problemas o mejoras en los cultivos locales. Por ello el primer objetivo es mantener y conocer la diversidad reunida. A corto plazo se busca conocer detalladamente las características morfológicas, agronómicas o tecnológicas de las accesiones reunidas en ambas colecciones de cara a disponer de información contrastada, de varios años, que permita apoyar la toma de decisiones en el diseño de nuevas plantaciones. Aunque las producciones regionales de avellano se destinan principalmente al autoconsumo o a la venta de excedentes en los mercados locales, disponer de variedades locales diferenciadas sería un punto de partida para la recuperación y modernización de este cultivo en Asturias. En el caso del arándano la colección

reunida es el soporte para el programa de mejora genética que se desarrolla con el objeto de obtener variedades de producción tardía o extra-tardía adaptadas a las condiciones de la Cornisa Cantábrica, que permitirían cubrir un nicho de mercado a principios de otoño para el que actualmente no existe suministro que cubra la demanda.

Agradecimientos

Los trabajos en avellano fueron financiados, en parte, gracias a los proyectos RF01-030 y RF2008-0014-CO3-02. Los trabajos en arándano están siendo financiados a través del proyecto RTA2013-0076 del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, INIA.

Referencias bibliográficas

- ÁLVAREZ-REQUEJO, S. 1965. El avellano. Manuales Técnicos N.º 32. Ministerio de Agricultura, Madrid.
- FAO. 2014. Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Edición revisada. Roma. ■

↓
Racimo de arándanos.





Recursos fitogenéticos de manzano de sidra y de mesa

ENRIQUE DAPENA DE LA FUENTE. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Fruticultura. edapena@serida.org

MARÍA DOLORES BLÁZQUEZ NOGUERO. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Fruticultura. mdblazquez@serida.org

MERCEDES FERNÁNDEZ RAMOS. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Fruticultura. mercedfr@serida.org



Figura 1.-Vista general de la parcela BGV1 del Banco de Germoplasma.

Constitución del Banco de Germoplasma de Manzano

El Banco de Germoplasma de Manzano del Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) se constituyó en el año 1990 en el marco de un proyecto nacional de recursos fitogenéticos de pepita y hueso del Norte (INIA 9162) y forma parte de la Red Nacional de Bancos de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). En una etapa previa, entre 1986-1990, se determinaron, mediante caracterización morfológica, los duplicados existentes entre los materiales provenientes de la Estación Pomológica, se realizó la incorporación de algunos materiales de una prospección efectuada entre 1979-82 en el con-

cejo de Nava por el Dr. Dapena y se abordó la renovación del material que se disponía en colección.

El Banco de Germoplasma de Manzano reúne 803 entradas que, en función de su etapa de incorporación, se pueden separar en tres grupos, las provenientes de la antigua Estación Pomológica (245 entradas), las que se incorporaron paulatinamente desde el año 1987 hasta el año 1998 (132 entradas), y las que se incorporaron en los años 1998 y 1999, como resultado de una importante prospección de variedades locales (426 entradas).

El proceso de conservación y enriquecimiento de los recursos del Banco de Germoplasma de Manzano del SERIDA se llevó a cabo desde el año 1991 hasta





la actualidad mediante el desarrollo de proyectos de recursos fitogenéticos de manzano (INIA 9162, RF94-030, RF95-024-C6-5, la financiación de la Caja Rural de Asturias (1995-1997), los convenios de colaboración entre el INIA y el SERIDA para la ejecución de actividades de carácter permanente de Conservación e Inventario de Recursos Fitogenéticos (1998 hasta el 2003), y los proyectos de actividades permanentes de conservación INIA (RFP2004-00025, RFP2009-18 y RFP2012-00022). Durante este periodo se realizó una prospección en la zona centro oriental de Asturias en 312 plantaciones de 146 núcleos de población de 25 municipios, que permitió la salvaguarda de unos recursos fitogenéticos que se encontraban en grave riesgo de desaparición en Asturias (Dapena *et al.*, 1999), la incorporación, a requerimiento del INIA, de variedades vascas existentes en las colecciones de las Estaciones de Zubieta (Diputación de Guipúzcoa), Zalla (Diputación de Vizcaya) y gallegas en la colección de la Estación de Areiro (Diputación de Pontevedra), y el enriquecimiento con variedades de sidra y mesa de otras procedencias y algunos materiales de otras especies del género *Malus*. Además, se abordaron nuevas actuaciones de renovación y reposición y los consiguientes trabajos de verificación de la identidad varietal de las entradas repuestas o renovadas.

Todo ello ha posibilitado la conformación de un Banco de Germoplasma de Manzano con 803 entradas, que reúne una alta diversidad genética de manzano de diversas procedencias y que es la colección más importante del estado español y una importante colección en el ámbito del Arco Atlántico, en especial de variedades de manzana de sidra. En la tabla 1 se presenta la distribución de las entradas en función del origen y el tipo de uso.

Conservación y caracterización, de los recursos fitogenéticos disponibles

Actualmente, las 372 entradas incorporadas **hasta el año 1998** están conservadas en dos plantaciones colección:

ORIGEN	N	%
Asturianas de sidra	516	64,26%
Vascas de sidra	57	7,10%
Extranjeras de sidra	30	3,74%
Total de sidra	603	75,09%
Asturianas de mesa	35	4,36%
Gallegas	21	2,62%
Variedades de mesa del nordeste	15	1,87%
Extranjeras de mesa	121	15,07%
Total de mesa	192	23,91%
Otras especies de <i>Malus</i>	8	1,00%
TOTAL	803	100

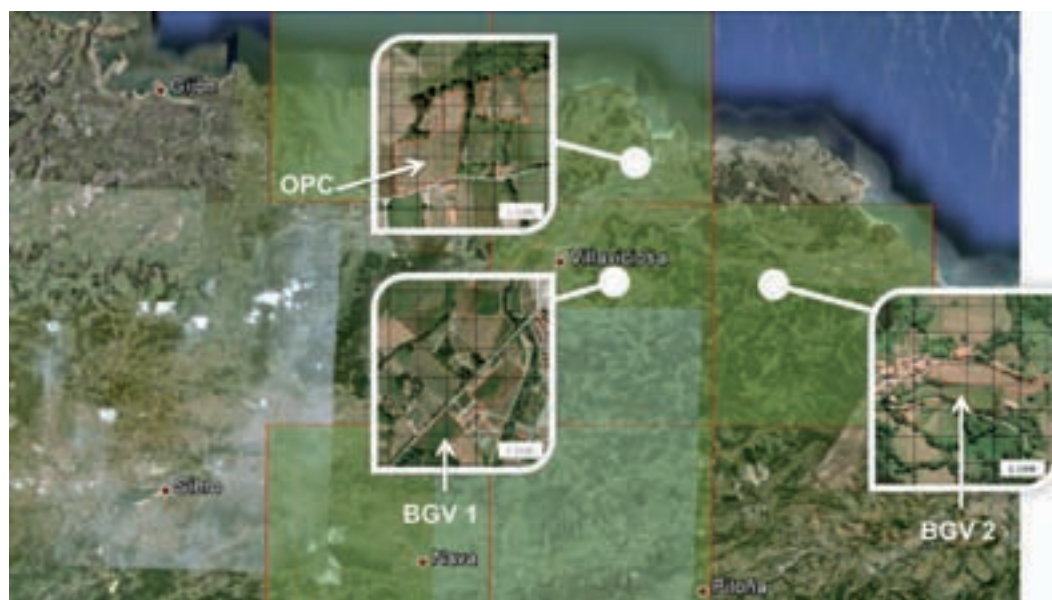
- La plantación colección BGV1 (Fig. 2), localizada en las instalaciones del SERIDA, que fue establecida en el año 2001 a razón de tres árboles / entrada, injertados sobre el portainjertos PI80. Aprovechando la necesidad de abordar su renovación se agruparon en una misma parcela todas las accesiones recogidas en tres parcelas diferentes.
- La plantación colección BGV2 (Fig. 2), ubicada en Priesca, en el concejo de Villaviciosa, que fue establecida en el 2011 como plantación de seguridad de las accesiones disponibles en BGV1, a fin de evitar riesgos de pérdidas por enfermedades o plagas, o problemas a nivel edáfico. Las variedades se injertaron en el portainjertos M7 y se dispone de dos árboles por accesión.

A partir de la prospección efectuada entre 1995-97, **en los años 1998-99** fueron incorporadas 426 variedades locales, primeramente en una plantación-colección, denominada VPC, en las instalaciones del SERIDA en Villaviciosa, a razón de tres árboles por entrada, injertados sobre portainjertos tipo M9 para acelerar la entrada en producción. En los años 2002 y 2004 se establecieron dos plantaciones complementarias para asegurar su conservación y poder hacer la evaluación de estos recursos fitogenéticos en otros hábitats con condiciones edafoclimáticas diferentes. La primera, denominada NPC, se efectuó en el concejo de Nava (zona interior de la Comarca de la Sidra), en la

↑
Tabla 1.-Distribución de las accesiones del Banco de Germoplasma de manzano en función del origen y el uso.



→
Figura 2.-Ubicación de las plantaciones colección de las 425 entradas incorporadas en el Banco de Germoplasma de Manzano.



que se utilizó el portainjertos M7 y se plantaron tres árboles/entrada, y la segunda, denominada OPC, (Fig. 2) en la franja litoral de la Comarca de la Sidra en la Lloraza, Oles (Villaviciosa), en la que se utilizó también el portainjertos M7 y se plantaron dos árboles/entrada. Como consecuencia de los daños habidos en los árboles, en la parcela VPC por intensos ataques de roedores, al resultar el portainjertos M9 muy vulnerable a los micrótidos, y los daños producidos por asfixia radicular en la parcela de NPC, debido a prolongados periodos de intensas lluvias en los inviernos 2008 y 2009, al ser un terreno de sustrato arcilloso con una capa freática bastante superficial, actualmente se conservan estas variedades únicamente en la parcela OPC, aunque se está procediendo a producir nuevamente planta para disponer de otra plantación colección de seguridad con estas accesiones.

Con la ejecución de los proyectos INIA RF01-011, RF04-00046, RF08-33 y RF11-0001-C05-04, se dio un fuerte impulso a la caracterización morfológica, incluyendo una notable contribución metodológica (Dapena *et al.* 2009), y paralelamente se abordó la caracterización molecular de la mayor parte de las entradas del Banco, para verificar la identidad varietal y detectar las sinonimias existentes y analizar la diversidad y estructura genética de los recursos disponibles. A partir

de los análisis efectuados con 14 microsatélites en 247 entradas (Llamero, 2014) se ha podido comprobar que el número de sinonimias de los materiales incorporados antes de 1998 es reducido (Tabla 2) y algunas podrían deberse a errores en los procesos de renovación ('Gloster 69', 'Chisel Jersey' o 'Vostok'), y que las variedades estudiadas presentaron una alta variabilidad genética. Además se ha determinado la estructura poblacional de las variedades analizadas, habiéndose diferenciado una población que agrupa la mayor parte de las variedades asturianas, y se encontró una mayor proximidad genética con las variedades vascas, mientras que algunas variedades de mesa localizadas en Asturias presentaron una mayor proximidad con variedades internacionales.

Evaluación y optimización de su aprovechamiento

En el Banco de Germoplasma de manzano se ha llevado a cabo una intensa labor investigadora orientada a optimizar su aprovechamiento. Esta actividad se ha realizado en el marco de los proyectos de investigación INIA 8567, SC93-089, FICYT, INIA SC98-013, RTA01-013, RTA04-147, RTA08-120 y RTA12-00118. Estos trabajos han permitido la evaluación agronómica y tecnológica de la mayor parte de los recursos existentes (Da-



pena, 1996; Dapena y Blázquez, 2003), (Mangas *et al.*, 1999; Miñarro y Dapena, 2007) la selección de las variedades de mayor interés y la obtención de nuevas variedades de elevada resistencia, regularidad productiva o elevado contenido en fenoles (variedades amargas) (Dapena y Blázquez, 2004) y el registro de algunas de ellas. Las variedades seleccionadas por el Programa de Fruticultura del SERIDA son las que se han estado utilizando principalmente en la renovación del cultivo del manzano de sidra en la Cornisa Cantábrica y han sido incluidas como prioritarias en la Denominación de Origen Protegida Sidra de Asturias (Dapena y Blázquez, 2009), lo que ha supuesto una importante repercusión económica. También algunas variedades de consumo en fresco están siendo cultivadas a escala regional. Actualmente alguno de estos recursos fitogenéticos sirven de base para la realización de nuevos trabajos de selección y mejora genética desarrollados por el Programa de Fruticultura del SERIDA.

La actividad investigadora ha generado una información que contribuye a la caracterización secundaria de las variedades del Banco de Germoplasma y está siendo utilizada para su documentación, mediante la elaboración de fichas varietales que aglutinan los resultados de evaluación agronómica y tecnológica y los de caracterización morfológica y molecular. Como ejemplo se expone en la figura 2 la ficha de la variedad Amariega.

Cooperación con otros Bancos de Germoplasma de Manzano

A nivel internacional el Dr. Dapena ha participado como representante español en el Grupo Malus Pyrus del ECP/GR, desde su constitución y se han mantenido relaciones de colaboración bilaterales, en especial con el Conservatoire de Aquitania (Francia) y el Centro de Gembloux (Bélgica). A nivel estatal, con el Centro de Recursos Fitogenéticos del INIA, la Estación de Zubieta (Diputación de Guipúzcoa), la Estación de Zalla (Diputación de Vizcaya), el ITGA (ahora INTA de Navarra), el CEDER de la Serranía de Ronda (Málaga), la Universidad de Sevilla y la Asociación San Vitores de Hijas (Cantabria).

VARIEDAD	Sinonimias	
Antonovka	Belflor Quitaica n.º 201	
Astracán Blanca	Papirovca	
Astracán Roja	San Pedro	
Calvilla Lesans	Ontario	
Camuesa Castellana	Camuesa de Daroca	
Cortland	Gloster 69	
Durona de Tresali	Puntalina	
Golden Delicious	Golden Auvil Spur	
Gorri Txikia	Oni Sarratua	
Guldborg	Flippa	
Marie Menard	Chisel Jersey	
Manolo Ríos	Valiente el Nietu	
Princesa de Asturias	EM42	
Raxao Antigua	Llagar	
Reineta Blanca del Canadá	Reineta Francia	
Reineta de Madera	Nuestra Señora	
Reineta Gris de Canadá	Esperiega	
Reineta Panera	Fernal	
Revoltosa	Sagar Gorria	Txistu Sagarra
Scarlet Staymanred	Vostok	
Tartalla	Jacques Level	
Transparente Amarilla	Cons Pender Plat	Flamenche
Verdialona	Barnes	

Más recientemente con el desarrollo del proyecto de I+D del INIA RF2011-00017-C05-04 "Armonización de la metodología de caracterización, evaluación de la diversidad genética y definición de la colección nuclear de germoplasma de manzano conservado en los Bancos de Germoplasma españoles" en el que están implicados grupos de investigación de la UPNA (Navarra), Aula Dei y CITA (Aragón) UdL (Lérida), USC (Galicia) y el SERIDA (Asturias), se ha realizado una intensa actividad orientada a optimizar el manejo y la gestión de los recursos fitogenéticos de manzano autóctono conservados en los Bancos de Germoplasma españoles por medio del desarrollo y la implementación de metodologías y criterios de caracterización comunes para caracteres morfológicos y moleculares, así como el analizar de forma conjunta la variabilidad conservada en las colecciones existentes, y determinar las accesiones que representan la mayor parte de la variabilidad genética albergada en las colecciones y que integrarían la colección nuclear nacional de esta especie (Miranda *et al.*, 2014).

↑
Tabla 2.-Relación de sinonimias.





Descripción del árbol y caracteres agronómicos y tecnológicos

Vigor: Elevado.
Siluetas de la estructura de la ramificación (Sistema de formación en eje): 15.
Tipo de fructificación: IV.
Sensibilidad a hongos: Baja a moderado y muy baja a oídio, chancro y monilia.
Época de inicio de la floración (promedio periodo 2005-2009): Tardía (principios de la primera decena de mayo).
Época de maduración: Tercera decena de octubre a primera decena de noviembre.
Producción: Rápida entrada en producción.
Rendimiento en mosto (l/100 Kg): 65,7.
° BRIX: 12,5.
Acidez total (g/H₂SO₄): 2,1.
pH: 3,8.
Fenoles totales (g/l ac. Tánico): 2,4.
Grupo tecnológico: Amargo.



Caracteres morfológicos de los brotes

Espesor del entrenudo central: Medio (5,1-6 mm) a algo delgado (4,1-5 mm).
Longitud de un entrenudo: Corto (21-25 mm).
Rigidez: Flexible.
Color: Marrón oscuro.
Recubrimiento grisáceo plateado (%): >75%.
Pubescencia: Muy elevada (>75%).
Número de lenticelas: Escasas (4-8/cm²).
Forma de las lenticelas: Redondas.
Tamaño de las yemas: Medio a grande.
Forma de las yemas: Cónica o en punta y algunas alargada u ojival.
Posición de la yema: Pegada.



Caracteres morfológicos de las flores

Color del botón: Púrpura.
Forma del botón: Redondeado.
Diámetro de la corola: Mediano (41-45 mm) a pequeño (35-40 mm).
Forma de la flor abierta: Medianamente capuliforme.
Color de la flor abierta: Blanco rosado.
Posición relativa de los pétalos: Tocándose.
Relación longitud / anchura de los pétalos: Mucho más largo que ancho (>1,6).
Forma de los pétalos: Elípticos y algunos fusiformes.
Longitud de la uña: Media (2,1-3 mm).
Color de los sépalos: Verde.
Posición de los estigmas / anteras: Al mismo nivel a más bajo.
Longitud de la zona soldada del estilo: Nula.
Pubescencia de la zona soldada del estilo: -
Pubescencia de la zona libre del estilo: Glabro.

↑→

Figura 2.-Ficha de la variedad Amariega.



Caracteres morfológicos de las hojas

Forma de la inserción de la hoja en relación al brote: Horizontal.
Longitud máxima del limbo: 79 mm.
Anchura máxima del limbo: 55 mm.
Relación longitud / anchura de la hoja: Pequeña (1,3-1,6).
Forma de la hoja: Ovalar, lanceolada y algunas elípticas.
Cima del limbo: Puntas cortas y anchas.
Base del limbo: Festoneada o lobulada.
Intensidad de color del limbo: Verde oscuro.
Forma de la denticulación del borde del limbo: Bicrenada.
Pubescencia: Abundante a media.
Longitud del peciolo: Medio (21-25 mm).
Estípulas: Filiformes.
Extensión de la coloración antocianica del peciolo: Nula a pequeña.



Caracteres morfológicos de los frutos

Altura: $59,44 \pm 5,72$ mm.
Diámetro: $73,89 \pm 6,19$ mm.
Relación altura diámetro: Bastante aplanada.
Posición diámetro máximo: En el medio (69,9%) y hacia el pedúnculo (30,1%).
Acostillado interior cubeta ocular: Ausente débil.
Coronamiento final cáliz (perfil cubeta): Ausente o débil.
Apertura ojo: Algo abierto (61,0%) y abierto (22,0%).
Tamaño ojo: Medio (75,4%) y pequeño (17,5%).
Longitud sépalos: Media (65,9%).
Profundidad cubeta ocular / altura: Poco profunda (58,9%) y media (39,7%).
Anchura cubeta ocular / diámetro: Ancha.
Longitud pedúnculo: Muy corta (64,9%) y corta (19,3%).
Espesor pedúnculo: Medio (59,6%) y grueso (31,6%).
Profundidad cubeta peduncular / altura: Media (76,7%) y poco profunda (19,2%).
Anchura cubeta peduncular / diámetro: Ancha.
Relación cubeta ocular / cubeta peduncular: Cilíndrica.
Forma: Aplanada globulosa (61,6%) y truncada cónica (21,9%).
Pruina epidermis: Ausente o débil.
Textura epidermis: Cerosa.
Estado ceroso de la epidermis: Moderado (58,5%) y débil o ausente (29,3%).
Color de fondo: Verde blanquecino (53,7%) y amarillo blanquecino (39,0%).
Extensión del color de superficie: Alta (65,9%) y media (31,7%).
Color de superficie: Rojo y naranja marrón con estrías rojas y púrpuras.
Intensidad color superficie: Media (63,4%) y oscura (36,6%).
Tipo color de superficie: Placas continuas con estrías.
Cantidad de russeting en cubeta peduncular: Alta (58,5%) y media (31,7%).
Cantidad de russeting en laterales: Ausente o baja.
Cantidad de russeting en cubeta ocular: Ausente o baja (78,0%) y media (19,5%).
Densidad de las lenticelas: Media (75,6%) y baja (24,4%).
Tamaño de las lenticelas: Medio.
Aureola: Sin aureola.
Color núcleo lenticelas: Marrón.
Color de la pulpa: Blanco.
Apertura de lóculos (en sección transversal): Cerrados (50,9%) y algo abiertos (49,1%).



Figura 2.-Ficha de la variedad Amariéga (continuación).

Previsiones de futuro

Se pretende trabajar en los siguientes aspectos:

- Incorporación de recursos fitogenéticos de la región de la especie silvestre emparentada *Malus sylvestris*.
- Finalizar la caracterización morfológica de las entradas locales que se incorporaron en los años 1998-99.
- Completar la caracterización molecular de las entradas del Banco de Germoplasma de Manzano, que se encuentra en fase muy avanzada y se espera concluir en el año 2015. Ello permitirá completar la identificación de las entradas y determinar las duplicaciones que puedan existir, en especial entre las entradas incorporadas en 1998-99.
- Completar el análisis de la diversidad genética, utilizando los datos de caracterización morfológica y molecular y de evaluación agronómica y tecnológica.
- Continuar la documentación del Banco de Germoplasma mediante elaboración de fichas varietales de síntesis con la inclusión de los datos disponibles de la evaluación agronómica y tecnológica, obtenidos a través de proyectos de investigación y los de caracterización morfológica y molecular.
- Abordar un plan de actuación de conservación descentralizada, de tal modo que cada variedad local esté conservada en fincas de al menos dos productores-conservadores. Un plan de actuación de estas características se está abordando de modo muy satisfactorio en Suiza, y se considera que puede ser un modo de implicar a productores de la región en la conservación de los recursos fitogenéticos locales, de poder comprobar el comportamiento de las variedades locales en otros hábitats y de favorecer su utilización a pequeña escala.



Agradecimientos

Los autores agradecen al INIA, a los fondos FEDER, y al Principado de Asturias la financiación principal de las actuaciones en esta materia; y a FICYT, CajAstur, Caja Rural de Asturias, Caja Rural de Gijón, Proder II "Comarca de la Sidra", la cofinanciación habida al respecto. También a Marcos Miñarro por su colaboración y comentarios al texto, así como al resto del personal del Programa de Investigación de Fruticultura del SERIDA.

Referencias bibliográficas

- DAPENA, E. (1993). El cultivo del manzano (I, II). En: *Sidra y Manzana de Asturias*. 325-340, 341-356. Edit. Prensa Asturiana.
- DAPENA, E. 1996. Comportamiento agronómico y tecnológico de variedades de manzano asturianas. Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo
- DAPENA E. Research activities at SERIDA (Spain). Second Meeting of the ECP/GR Working Group on Malus/Pyrus, Pillnitz, Dresden (Germany), 2-4 Mayo 2002.
- DAPENA, E. 2006. Proposal of the new classification of apple general shape based on biometrics criteria. III meeting of the Working group Malus/Pyrus. Tbilisi, Georgia, 25-27 de octubre de 2006.
- DAPENA, E.; BLÁZQUEZ, M.^a D. 1997. Apple genetic resources in the Cantabrian coast and their use in a cider apple breeding programme. Report of a Working Group on Malus/Pyrus. ECP/GR-IPGRI.
- DAPENA, E.; BLÁZQUEZ, M.^a D. (2002). Conservación, evaluación, selección y mejora de los recursos fitogenéticos del Banco de Germoplasma de Manzano del SERIDA. Fruticultura Profesional. Especial Manzano II, nº 128: 65-72.
- DAPENA, E.; BLÁZQUEZ, M. D. 2003. Evaluación y selección de variedades de manzano de sidra asturianas del Banco Nacional de Germoplasma. Libro de actas del X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas 2003: 82-84.
- DAPENA, E., BLÁZQUEZ, M. D. (2004). Improvement of the resistance to scab, rosy apple aphid and fireblight in a breeding programme of cider apple cultivars. *Acta Horticulturae* 663: 725-727.
- DAPENA, E., BLÁZQUEZ, M. D. (2009). Descripción de las variedades de manzana de la D.O.P. Sidra de Asturias. SERIDA. 69 pp.
- DAPENA, E.; GARCÍA, J.; BLÁZQUEZ, M.^a D. 1999. Conservación y aprovechamiento de los recursos fitogenéticos de manzano en Asturias. Resultados de una nueva selección de variedades locales. *Rev. Mayando* n.º 3.
- DAPENA, E.; BLÁZQUEZ, M. D.; FERNANDEZ, M. (2006). Recursos fitogenéticos del Banco de Germoplasma de manzano del SERIDA. *Tecnología Agroalimentaria* 3, 34-39.
- DAPENA, E., MIÑARRO, M., BLÁZQUEZ, M. D. 2008. Producción frutal mediante la utilización de sistemas sostenibles y variedades locales: un ejemplo en manzano. En: Red Andaluza de Semillas (Ed.) *Manual para la Utilización y Conservación de Variedades Locales de Frutales y Leñosas*, Red Andaluza de Semillas, Sevilla. Pp. 111-128.
- DAPENA, E., BLÁZQUEZ, M. D., ÁLVAREZ, J., MIÑARRO, M., FERNÁNDEZ, M. *Conservation and use of local cider-apple cultivars in Asturias (NW Spain)*. Póster. Eucarpia symposium: Breeding for resilience: a strategy for organic and low-input farming systems? Paris, 1-3 de diciembre de 2010.
- LLAMERO, N. 2014. Caracterización molecular de variedades del Banco de Germoplasma de Manzano del SERIDA. Proyecto fin de master, Universidad de Oviedo, julio 2014. [Director] Enrique Dapena.
- MANGAS, J. J.; RODRÍGUEZ, R.; SUÁREZ, B.; PICINELLI, A. & DAPENA, E. (1999). Study of the phenolic profile of cider apple cultivars at maturity by multivariate techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (10), 4046-4052.
- MIÑARRO, M.; DAPENA, E. (2007). Resistance of apple cultivars to *Dysaphis plantaginea* (Hemiptera: Aphididae): role of tree phenology in infestation avoidance. *Environmental Entomology* 36(5): 1206-1211.
- MIRANDA, C.; PEREIRA-LORENZO, S.; RAMOS-CABRER, A. M.; URRESTARAZU, J.; PINA, A.; DIAZ-HERNANDEZ, M. B.; SANTESTEBAN, L. G.; LAQUIDAIN, M. J.; DAPENA, E.; ERREA, P.; SANZOL, J.; URBINA, V.; DALMASES, J.; BLANCO, A.; MORENO, M. A.; GOGORCENA, Y.; ROYO, J. B. 2014. Diversidad genética de las colecciones españolas de manzano evaluada con SSR. *Acta Horticulturae*. 69: 57-58.
- PÉREZ-ROMERO, L. F.; SUÁREZ, M. P.; DAPENA, E.; RALLO, P. 2015. Molecular and morphological characterization of local apple cultivars in Southern Spain. *Genet. Mol. Res.* 14 (1): 1487-1501.
- RAMÍREZ, M.; LÓPEZ, J. A.; DAPENA, E.; HORMAZA, I. Recuperación y puesta en valor del Pero de Ronda. Póster. VIII Congreso SEAE de Agricultura y Alimentación Ecológica. Bullas (Murcia), 17-20 de septiembre de 2008.
- RUIZ E. 2002. "Utilización de marcadores moleculares en la conservación y mejora genética de variedades de manzano en Asturias". Seminario de Investigación Universidad de Oviedo, Junio 2002. ■



Recursos fitogenéticos de castaño, cerezo y nogal

MARTA CIORDIA ARA. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa Forestal. mciordia@serida.org
 ISABEL FEITO DÍAZ. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa Forestal. ifeito@serida.org
 JUAN MAJADA. Centro Tecnológico y Forestal de la Madera de Asturias (CETEMAS). jmajada@cetemas.es



←
 Ensayo clonal de híbridos
 interespecíficos de
 castaño, Taramundi,
 noviembre 2013.

Introducción

La finalidad de un programa de mejora genética vegetal es la de optimizar las principales características de rendimiento y de calidad, así como garantizar la seguridad de producción a través de la selección de genes deseables y su perpetuación mediante la utilización de semillas o clones mejorados. Por tanto, el desarrollo de un programa de mejora genética forestal consistirá en el establecimiento de poblaciones o individuos genéticamente superiores, a partir de poblaciones amplias y diversas (poblaciones base) de especies forestales, mediante su uso

operacional como semilla a partir de poblaciones de producción, o mediante clones por multiplicación vegetativa.

A modo de resumen, podemos recordar las siguientes definiciones:

El **Material de Base** está constituido por aquellas poblaciones, plantaciones y clones de los que se obtiene el **Material Forestal de Reproducción (MFR)** (semillas y plantas) para utilizar en las repoblaciones. Los tipos de material de base aprobados actualmente son: Fuentes semilleras, Rodales selectos, Huertos semilleros, Progenitores de familia, Clones



y Mezcla de clones. A su vez, de acuerdo al nivel de selección y/o mejora, es decir, la cantidad de información disponible sobre el material, los MFR se clasifican en las siguientes categorías: identificado, seleccionado, cualificado y controlado.

El **Catálogo Nacional de Materiales de Base (CNMB)** es el registro de todos estos tipos de materiales de base para la obtención de las diferentes categorías de material de reproducción.

La mejor garantía para la utilización de buen material genético es poder disponer de materiales cualificados y/o controlados de acuerdo con la normativa (Real Decreto 289/03 que traspone y adapta a España la Directiva Europea 1999/105/CE sobre comercialización de MFR). La selección de estas categorías de material permite asegurar tanto el origen como la calidad genética de los materiales con los que se realizan las plantaciones o repoblaciones. Este Real Decreto establece que los MFR comercializados para ser empleados en plantaciones deben estar inscritos en CNMB.

Para garantizar la adaptabilidad de los materiales a los sitios de plantación, así como la adecuación de los materiales de base destinados a la producción de MFR de las categorías material identificado y seleccionado, se delimitan las regiones de procedencia para las especies pertinentes. **La región de procedencia** es el territorio o conjunto de territorios con condiciones ecológicas prácticamente uniformes en los que hay poblaciones (masas, rodales o fuentes semilleras) que presentan características fenotípicas o genéticas semejantes, teniendo en cuenta el aislamiento geográfico y las diferencias ecológicas (localización, altitud, clima, estación meteorológica, fitoclima, geología y litología, suelos, vegetación acompañante y series de vegetación). En España, al no existir una caracterización de **Regiones de Procedencia** o unidades básicas de comercialización para las frondosas de interés regional, como el castaño (*Castanea sativa*), el nogal (*Juglans regia*) o el cerezo (*Prunus avium*), se emplea el método diviso de **RIUs (Regiones de Identificación y Utilización del**

material forestal de Reproducción) que comprende, para cada zona, el origen del material y sus principales características ecológicas (García *et al.*, 2005). El territorio del Principado de Asturias está dividido en dos RIUs, la n.º 3, que se corresponde con la zona litoral, y la RIU n.º 4, con la interior.

Las Fuentes Semilleras y los Rodales Selectos serían los materiales de base del CNMB sometidos a requisitos menos severos. En estos casos, no es necesario conocer el valor de mejora intrínseco del material, ni tampoco la predicción del comportamiento de su descendencia. Una primera revisión de estos materiales no mejorados se publicó en esta misma revista (Kidelman *et al.*, 2007). En ese artículo se presentaron los materiales forestales ya disponibles en Catálogo para su recolección en el Principado de Asturias, según categorías y especies: castaño europeo (*Castanea sativa* Mill.), cerezo (*Prunus avium* L.), haya (*Fagus sylvatica* L.), roble común o carbayo (*Quercus robur* L.), roble albar [*Quercus petraea* (Mattuschka) Liebl.] y pino del país (*Pinus pinaster* Aiton). Posteriormente, en la revista Oficial de la Agrupación de Propietarios Forestales, Viesca Astur (Majada *et al.*, 2011) se publicó el listado de los Materiales Forestales de Reproducción (MFR) de castaño e híbridos para madera disponibles en España, así como las características y aptitudes de los clones inscritos en el Catálogo.

Sin embargo, los recursos genéticos de estas categorías no mejoradas presentan un gran dinamismo temporal, con entradas y salidas constantes del catálogo. Por ello, es importante recurrir a las bases de datos disponibles en http://www.magrama.gob.es/es/desarrollo-rural/temas/politica-forestal/recursos-geneticos-forestales/rgf_catalogo_materiales_base.aspx, donde se puede acceder a todos los boletines oficiales en los que se publican las categorías disponibles para las distintas especies.

En Asturias, la generación de materiales de calidad genética superior está ligada al inicio, en 2003, del Programa de Investigación Forestal de la Consejería de Agroganadería y Recursos Autóc-

tonos (PIF), en el que participa el SERIDA. Entre las prioridades del sector se planteó la necesidad de desarrollar materiales genéticamente mejorados en diversas especies de interés por su alto valor añadido y como base de una posible diversificación en la producción forestal de madera de calidad en el Principado de Asturias. Aunque con pequeñas diferencias, que se detallarán más adelante, los programas de mejora de castaño, nogal y cerezo, iniciados entre 2003 y 2005, tuvieron en cuenta dos aspectos esenciales para que un programa de mejora sea exitoso: i) obtener ganancia en cantidad y calidad de productos mediante la selección de unos pocos individuos (genotipos élite) para servir como padres y que suministren las progenies que serán propagadas y plantadas con fines operacionales y ii) proveer una base genética lo más amplia posible (Zobel y Talbert, 1984).

La selección de MFR para la producción de madera en frondosas tiene como objetivo disminuir la ramosidad, mejorar el vigor, la rectitud de fuste, la dominancia apical, las características de la madera, la capacidad de adaptación frente al cambio climático, así como la resistencia a plagas y enfermedades.

Castaño

Castaño para uso forestal

Los materiales de castaño europeo inscritos en el CNMB corresponden, principalmente, a la categoría identificado. Asturias cuenta, tras la ampliación en 2011 del CNMB con diversas especies forestales para la producción de MFR (BOE n.º 148 de 22 de junio de 2011), con cinco fuentes semilleras de *Castanea sativa* en esta categoría. Sin embargo, en otras comunidades autónomas existen materiales disponibles de las categorías restantes que corresponden, principalmente, a materiales de castaño híbrido entre la especie europea (*C. sativa*) y la japonesa (*C. crenata*).

En Asturias, la aplicación práctica del RD 289/03 está preparándose en base a las caracterizaciones de los materiales disponibles. En este sentido, se cuenta con

una Población Base de progenies de *Castanea sativa*, con dos ensayos ubicados en La Toya, (Arriondas) y en Les (Taramundi), respectivamente.

Los estudios se iniciaron con la prospección, identificación, selección y caracterización con parámetros forestales, de árboles superiores de castaño en las dos RIUs, totalizando 40 accesiones en la RIU n.º 3 y 20 en la RIU n.º 4.

Se consiguieron 57 familias de *semi-fratias* a partir de la germinación de las semillas recogidas de cada árbol superior. La planta obtenida se instaló en dos ensayos con diferentes características edafoclimáticas en los años 2001-2002 en el marco del proyecto FEDER 1FD97-0955-C03-02, "Desarrollo integral del aprovechamiento de castaño en Asturias". En estos ensayos de progenies se introdujeron como control clones de *C. crenata* x *C. sativa*, así como material de semillas de las especies asiáticas puras.



←
Castaño injertado de la colección del Banco clonal, Grado, enero 2012.

Las plantaciones siguen un diseño en bloques incompletos al azar, con 30 y 20 bloques en Arriondas y Taramundi, respectivamente, y un individuo/familia/bloque.

La parcela del **ensayo de La Toya** (Arriondas) se encuentra a una altura de 250 m. Ocupa una superficie de 6,91 ha, con orientación NE y con una pendiente de 5-15%. El objetivo final de los trabajos de caracterización de este ensayo está enfocado a la determinación de parámetros genéticos de distintos caracteres de interés, al manejo de la población en la puesta en marcha de un programa genético, así como a su conversión a *Huerto Semillero de brinzales, categoría cualificado*, tras una depuración previa.

El **ensayo de Les** (Taramundi) se encuentra a una altura de 304,94 m sobre el nivel del mar. Ocupa 1,24 ha, con orientación NO y una pendiente de 25-35%. El objetivo final de los trabajos de caracterización de este ensayo es el de complementar la información en torno a la población base con la determinación de parámetros genéticos de distintos caracteres de interés, para posteriormente eliminarlo, a fin de priorizar la catalogación del material clonal, que se explica a continuación.

Estos dos ensayos de progenies de *C. sativa* se han evaluado en cuatro ocasiones, siendo la última medición conjunta la de 2007, y en 2010 solo para la de Arriondas. Los parámetros de seguimiento han sido la altura total y el diámetro de la base, el diámetro normal y a tres metros de altura, el número de ramas podadas, brotadas, curva del fuste y basal, volumen del árbol, supervivencia, así como presencia/ausencia de chancro. Estos trabajos se han recogido en un Proyecto Fin de Carrera (Méndez E., 2007).

Material clonal de híbridos interespecíficos de castaño. El objetivo de estos híbridos es generar materiales resistentes a los hongos del género *Phytophthora* (*P. cinnamomi* y *P. cambivora*) que causan la enfermedad de la tinta. En Asturias se dispone de un ensayo en Les (Taramundi) que recoge una amplia cantidad de clones de los existentes

en España. Consta de una colección con 27 genotipos de materiales híbridos interespecíficos de *C. sativa* x *C. crenata*, con un máximo de 20 copias/clon, obtenidos todos ellos en el núcleo de propagación de Clones Híbridos del CIF de Lourizán (Pontevedra). Algunos de estos materiales han sido autorizados como materiales de base para la producción de MFR y pertenecen a dos categorías, cualificados y controlados (DOG n.º 77, viernes 20 de abril de 2007), e incluyen el nivel de tolerancia a la tinta, así como los caracteres relacionados con la producción de fruta.

La reevaluación de nuestro ensayo clonal se realiza en base a caracteres fenológicos, de aptitud forestal, sensibilidad a chancro y tinta, de calidad de madera en pie con métodos sónicos, densidad básica y caracteres adaptativos. Esta caracterización se ha incluido en el proyecto presentado a la convocatoria INIA RTA2014-00073-00-00, la cual permitirá redefinir las unidades de admisión, clones ya existentes en el CNMB, que formen parte del huerto, y proponer un *Huerto de Progenitores de Familia de clones híbridos, categoría cualificado*. Para lograrlo, sería necesario depurar los clones híbridos menos interesantes, y las progenies de *C. sativa* del ensayo de Taramundi, anteriormente citado.

Además, la Comunidad Autónoma del Principado de Asturias ha autorizado la incorporación en el CNMB de **Fuentes Semilleras (FS) de *Castanea sativa*, para la producción de MFR Identificado**: FS-72/04/33/001 localizada en Teverga, FS-72/04/33/002 en Proaza, FS-72/04/33/003, FS-72/04/33/004 y FS-72/04/33/005, ubicadas en Caso. Todas ellas corresponden a la Región de procedencia n.º 4.

Castaño para uso frutícola. Banco clonal con los principales cultivares de castaño de Asturias

La recuperación de variedades tradicionales es una estrategia combinada que permite la conservación de la biodiversidad y el desarrollo sostenible del medio rural. De esta forma, la selección de los cultivares mejor adaptados a las condiciones locales, tanto desde el punto de vista productivo como fitosanitario, fa-

cilita el desarrollo y expansión de los cultivos, de modo que sus producciones sean económicamente viables.

Un primer paso en esta estrategia de conservación de los materiales genéticos de castaño para uso frutícola en Asturias supuso la prospección o búsqueda de cultivares injertados para producción frutícola, que se inició en el marco del proyecto financiado FEDER, 1FD1997-0955-C03-02, y se llevó a cabo en 145 localidades pertenecientes a 49 concejos, marcándose 301 accesiones, o árboles, que correspondían a 66 denominaciones varietales. Los estudios de caracterización morfológica y genética llevados a cabo en cada accesión se recogen en Pereira-Lorenzo *et al.* (2005), y han permitido clasificar los cultivares asturianos en dos grandes grupos, según el interés comercial y la dispersión del cultivar: cultivares principales y secundarios (Díaz *et al.*, 2009).

Con el fin de contribuir a recuperar, conservar y utilizar la diversidad genética en esta especie, así como para realizar un plan operativo de amplificación a gran escala, se ha instalado un Banco Clonal en las instalaciones del SERIDA de la finca La Mata (Grado) con 13 cultivares seleccionados: *Bacoa*, *Chamberga*, *Doriga*, *Forniega*, *Grúa*, *Llanisca*, *Miguelina*, *Navexa*, *Pareda*, *Pelona*, *Rapuca*, *Valduna* y *Vaquera*. Se cuenta con, al menos, dos pies injertados de cada cultivar, bien sobre patrón franco de *C. sativa*, o sobre el patrón clonal híbrido HS (unidad de admisión CHR-151). También está previsto incluir estas variedades frutícolas en el *Registro de Variedades Comerciales*.

Una vez caracterizados los cultivares asturianos y amplificado el material en un banco clonal, el siguiente paso es el establecimiento de proyectos piloto para poner en valor estas variedades tradicionales y evaluar aspectos culturales, productivos y económicos relacionados con el aprovechamiento de la castaña. En esta línea, se están desarrollando varios proyectos en terrenos municipales de los ayuntamientos de Las Regueras y Candamo, ambos regulados mediante convenio con la Consejería de Agroganadería y de

Recursos Autóctonos. La dirección técnica de los proyectos, con el apoyo del Programa Forestal del SERIDA, le corresponde a técnicos del Servicio de Montes de la Dirección General de Política Forestal. Como ejemplo, se ha iniciado la recuperación de la castaña *Valduna*, la evaluación de sensibilidad de los cultivares de castaño a la plaga emergente en Asturias *Dryocosmus kuriphyllus*, conocida popularmente como la avispa del castaño, así como la evaluación de la compatibilidad entre diferentes porta injertos con estos materiales.

Cerezo (*Prunus avium*)

Además de diversas fuentes semilleras localizadas en distintas provincias e inscritos como materiales de base para la producción de MFR identificado, existen actualmente una serie de clones y de huertos semilleros registrados en el CNMB como materiales cualificados.

El origen de los materiales existentes en Asturias tiene lugar con el desarrollo de un proyecto de ámbito supra-autonómico, dentro del marco del Plan Sectorial (I + D) del INIA y con la participación de las comunidades de Galicia, Asturias, Castilla-León y Navarra, que se inició con el proyecto "Mejora Genética de Especies Forestales Productoras de Maderas Valiosas" entre las que se encontraba el cerezo (INIA SC98-061-C3-2, 1998-2001). En este marco se realizaron actividades de prospección y selección de árboles superiores de cerezo *in situ* en Galicia, Asturias, Navarra, País Vasco y Castilla y León, basada en criterios de selección fenotípica de aptitud forestal (elevado crecimiento, buena conformación de fuste y sin bifurcaciones...).

Tras el injertado de las púas recogidas en las comunidades autónomas participantes del proyecto, se establecieron varios Huertos Semilleros: dos en el CIFA de Lourizán (Galicia), uno en el SERIDA de Asturias, otros dos en el CIF de Valonsadero (Soria) y uno en la sociedad GVRAN de Navarra. Además, se procedió a la clonación "in vitro" de algunos de los árboles élite seleccionados en campo. Posteriormente, en el SERIDA se ha pro-



es tal si no se ha valorado la adaptación al área, o estación, en la que se van a plantar. Este trabajo tuvo continuidad con los siguientes proyectos RTA2005-00057-C05-00 "Avance en la selección y mejora del nogal, cerezo, peral y pistachero para uso agroforestal", y RTA2011-00046-00-00 "Evaluación adaptativa, productiva y tecnológica de materiales de *Juglans* sp., de *P. avium* y de *Fraxinus* sp. para su uso en la producción de madera. Desarrollo de metodologías para selección/caracterización precoz de nuevos materiales", que persiguen la obtención de modelos de manejo de las plantaciones para la producción de madera de calidad y, a los que se incorporó el SERIDA como socio. Como resultado de estos proyectos se consolidó una red nacional de Huertos semilleros, así como de ensayos clonales a fin de evaluar la interacción genotipo x ambiente. Fruto de estas colaboraciones, se dispone en Asturias de los siguientes recursos genéticos de cerezo:

Banco clonal con 92 genotipos de árboles superiores de *Prunus avium*, cuyo objetivo es inscribirlo en el Catálogo como *Huerto Semillero, categoría cualificado*. Los clones de cerezo de este huerto provienen de 5 comunidades autónomas (CCAA) del norte peninsular. La plantación, realizada a un marco de 5 m x 5 m, sigue un diseño en bloques completos al azar, con 5 repeticiones y un individuo por unidad experimental, injertado sobre patrón franco. Se encuentra a una altitud de 190-210 m s.n.m. Ocupa una superficie de 1,5 ha, tiene una exposición NE y una pendiente que oscila entre el 5 y el 15%. El número de clones presentes en el banco clonal, la comunidad autónoma de origen de la que proceden y el número de clones seleccionados de cada comunidad en base a caracteres de crecimiento y resistencia a

↑
Ensayo cerezo clonal, Vegadeo, abril 2015.

↘
Tabla 1.-Número (n.º) de clones presentes en el Banco clonal de cerezo forestal en La Toya (Ariondas), la CCAA de origen de la que proceden y el n.º de clones de cada comunidad, seleccionados en Asturias, en base a caracteres de crecimiento y resistencia a cilindrosporiosis.

cedido a la clonación mediante técnicas de microesquejado de genotipos presentes en el huerto semillero de Asturias (Busto, 2008), los cuales habían sido seleccionados previamente por su vigor y calidad sanitaria. Pero la ventaja de la utilización del material mejorado clonal no

Procedencia (CCAA)	N.º clones Banco	N.º clones seleccionados
Asturias	10	2
Galicia	14	5
Navarra	62	5
País Vasco	4	0
Castilla y León	2	0

cilindrosporiosis en Asturias se recoge en la tabla 1.

Para alcanzar el objetivo indicado es necesario reinstalar el Banco clonal en otra ubicación, ya que las condiciones edáficas de esta parcela no son las adecuadas para esta especie. Una vez establecidos los grupos de incompatibilidad gametofítica (Cachi *et al.*, 2014), el banco se depurará en función de éstos, injertando los materiales seleccionados sobre patrones francos. En este sentido, se está a la espera de poder definir con la DGPF un lugar más adecuado para realizar la instalación del nuevo huerto y proceder a su registro en el CNMB.

Ensayo clonal con 18 genotipos de árboles superiores de *P. avium*. Instalado en 2009 en Montouto (Vegadeo, Asturias). Se encuentra a una altitud de 140 m s.n.m. y ocupa una superficie de 2.440 m².

Los genotipos de cerezo provienen de árboles plus de la mitad norte de la Península Ibérica: Galicia con 8 genotipos, Castilla y León con 5, y Navarra con 5 genotipos. Todos los ensayos instalados en la red nacional cuentan con tres clones franceses comerciales, de categoría controlado, como testigos. La plantación se realizó siguiendo un diseño en bloques completos al azar, con 8 bloques y una repetición por clon y bloque, plantada a un marco de 5 m x 5 m.

El protocolo de toma de datos ha sido común para todas las parcelas: crecimientos (diámetros y alturas), conformación (rectitud, dominancia y tipo de ramificación), y fenología. También se estudió la presencia de afecciones bióticas (cilindrosporiosis, pulgones, bacteriosis, etc) y abióticas. Los resultados obtenidos en la fase juvenil permiten concluir que el crecimiento está muy ligado a la estación y, que los caracteres adaptativos, como la duración del periodo vegetativo o la resistencia a enfermedades, tienden a depender del origen del material (Aletá *et al.*, 2014).

Además, en el proyecto solicitado INIA RTA2014-00008-00-00 está previsto completar la caracterización de estos



MFR de *Prunus avium* de la red de evaluación de materiales de base, en función de caracteres anatómicos de la madera, adaptativos, productivos, la variación ambiental de la estación y su interrelación, a fin de proporcionar una mayor información sobre criterios de uso en su catalogación en el CNMB como material 'cualificado o controlado'.

Además de estas colaboraciones, la Comunidad Autónoma del Principado de Asturias ha autorizado la incorporación en el CNMB de **Fuentes Semilleras (FS) de *Prunus avium*, para la producción de MFR Identificado: FS-95/04/33/001 y FS-95/04/33/002 en Cangas del Narcea, y FS-95/04/33/003 en Irbias.**

↑
Ensayo cerezo clonal,
Vegadeo, enero 2014.

Nogal (*Juglans* spp.)

A pesar de los avances realizados en España en la selección y mejora de *Juglans* spp., los MFR registrados en el CNMB se corresponden, principalmente, con fuentes semilleras de *J. regia* y de *J. nigra*, categoría identificado, HS de *J. regia* para la producción de MFR cualificado; varios clones de *J. nigra* de empresas privadas y clones híbridos y de *J. regia* del IRTA. Recientemente, se han incorporado cinco progenitores de familia de *J. regia* en el CNMB para la producción de MFR cualificado. El programa de conservación y mejora de nogal del Principado de Asturias tiene un enfoque similar al descrito anteriormente para *Castanea sativa*. Se trata de un plan regional con prospección de árboles superiores con aptitudes forestales en las distintas RIUs presentes en nuestro territorio, que se inició en el marco del proyecto RTA2005-00057-C05-00 "Avance en la selección y mejora del nogal, cerezo, peral y pistachero para uso agroforestal" seleccionándose, por parte del SERIDA, 43 árboles superiores distribuidos en 20 concejos.

A partir de los materiales y resultados generados en este proyecto, así como otros coordinados por el IRTA, en la actualidad contamos con los siguientes recursos genéticos:

Ensayo de progenies de *Juglans* spp., instalado en 2008 en el marco del pro-

yecto INIA RTA2005-00057-C05-00 en Intriago (Cangas de Onís). Se encuentra a una altitud de 440 m s.n.m. y ocupa una superficie de 0,6316 ha, con una pendiente del 40,1%. La plantación, a un marco de 5 m x 5 m, sigue un diseño en bloques completos al azar, con 3 repeticiones y 9 individuos por unidad experimental. Los materiales vegetales utilizados son siete progenies de *Juglans* spp.: 5 pre-seleccionadas por el IRTA (3 de *J. regia*: MBPo 6, MBT-231, MBT-218; 2 de *J. nigra*: MBNg 3, MBNg 10), y 2 híbridos comerciales utilizados como referencia (Ng23 x Ra y Mj209 x Ra). Esta estación forma parte de la red instalada a nivel nacional, que cuenta con dos ensayos en Cataluña (gestionados por el IRTA y el CTFC, respectivamente) y uno en Palencia (CIF, actualmente clausurado). Los datos experimentales registrados en el proyecto que dio continuidad al programa de mejora del nogal forestal, RTA2011-00046-00-00, son de carácter fenológico (desborre y defoliación), de crecimiento (alturas, diámetros) y de conformación (rectitud, dominancia, número-grosor-ángulo de ramas), fitopatológicos y sensibilidad a factores abióticos (heladas). Y al igual que en el caso del cerezo forestal, se ha solicitado financiación en el mismo proyecto (INIA RTA2014-00008-00-00) para valorar la influencia de la gestión y del ambiente en la diversidad y variabilidad de caracteres adaptativos y tecnológicos en nogal.

Como culminación de la caracterización adaptativa y productiva de estas progenies de *Juglans* sp. en las distintas climatologías, el IRTA tiene previsto registrar en el CNMB las selecciones como *progenitores de familia híbrida, categoría cualificado*.

Población base de progenies de semi-fratías de *Juglans regia* de Asturias, instalada en el invierno de 2009-2010, a un marco de 6 m x 6 m, con brinzales de tres años, en Cornellana (Salas), y mantenida con riego por goteo. Posee una superficie de 1,09 ha y una pendiente del 3,3%. La población base está constituida por los mejores individuos (276) de las mejores familias (34) y que se seleccionaron mediante un índice de selección precoz generado con herramientas estadísticas. Sobre esta población base se han

↓
Población base de progenies de nogales asturianos, Cornellana, septiembre 2012.



evaluado en campo parámetros fenotípicos de crecimiento (altura, diámetro), de conformación (rectitud, dominancia, número-grosor-ángulo de ramas), arquitectura (n.º ramas podadas, índice ramosidad), sensibilidad a heladas, así como fitopatológicos (abolladura, antracnosis).

La selección y desarrollo de materiales de reproducción de *J. regia* en Asturias con aptitudes forestales se han recogido en un Proyecto Fin de Carrera (García, 2010).

El objetivo final de estos trabajos será, disponiendo de la financiación adecuada, la reconversión a *Huerto Semillero de progenies de nogal asturianos, categoría cualificado*.



Referencias bibliográficas

- ALETÁ, N.; GUARDIOLA, N.; VILANOVA, A. 2014. El cirerer i la producció de fusta. Catalunya Forestal, n.º 121: 22-25.
- BOE (2003). Real Decreto 289/2003 de 7 de marzo. BOE n.º 58, de 8 de marzo de 2003, 9262- 9299 pp.
- BUSTO, D. 2008. Propagación clonal de material juvenil de *Prunus avium* L. Proyecto Fin de Carrera. Ingeniería Técnica Forestal, E.U. de Ingenierías Técnicas de Mieres, Universidad de Oviedo. Director: J. Majada y A. Kidelman.
- CACHI, A. M.; WÜNSCH, A.; VILANOVA, A.; GUARDIOLA, N.; CIORDIA, M.; ALETÁ, N. 2014. Identificación de los alelos S de incompatibilidad en cerezos silvestres del norte de la península Ibérica. VII Congreso de Mejora Genética de Plantas, Zaragoza, 16-18 de septiembre de 2014.
- MAGRAMA (2014). Registro y Catálogo Nacional de materiales de base. Disponible en http://www.magrama.gob.es/es/desarrollo-rural/temas/politica-forestal/recursos-geneticos-forestales/rgf_catalogo_materiales_base.aspx (Consulta realizada el 12-I-2015).
- DÍAZ, M. B.; CIORDIA, M.; RAMOS, A. M.; PEREIRA-LORENZO, S. 2009. Cultivares de castaño (*Castanea sativa* Mill.) de Asturias. Ediciones KRK y SERIDA, Asturias, España, 90 pp. ISBN 978-84-8367-163-4.
- DOG (2007). Orden de 16 de abril de 2007. DOG n.º 77, viernes 20 de abril de 2007, p. 6.413.
- GARCÍA, A. 2010. Selección y desarrollo de materiales de reproducción de *J. regia* L. en Asturias para la obtención de madera de calidad. Proyecto Fin de Carrera. Ingeniería Técnica Forestal, E.U. de Ingenierías Técnicas de Mieres, Universidad de Oviedo. Director: J. Majada y M. Ciordia.
- GARCÍA, J. M.; SÁNCHEZ, D.; ALÍA, R. 2005. Las regiones de procedencia. En: Alía, R.; Alba, N.; Agúndez, D. E.; Iglesias, S. (Eds.). Manual para la comercialización y producción de semilla y plantas forestales. Materiales de base y reproducción. Serie Forestal. Ministerio de Medio Ambiente. Gobierno de España. Madrid. 384 pp.
- KIDELMAN, A.; ORTEGA, U.; RODRÍGUEZ, R.; HEVIA, A.; ALVAREZ, E.; FEITO, I.; CIORDIA, M.; MAJADA, J. 2007. Materiales para repoblaciones forestales. Tecnología Agroalimentaria n.º 4: 25-31.
- MÉNDEZ, E. 2007. Variación genética en volumen y forma en dos sitios de ensayo de *Castanea sativa*. Proyecto Fin de Carrera. Ingeniería Técnica Forestal, E.U. de Ingenierías Técnicas de Mieres, Universidad de Oviedo. Director: J. Majada.
- PEREIRA-LORENZO, S.; RAMOS-CABRER, A. M.; DÍAZ-HERNÁNDEZ, M. B.; CIORDIA-ARA, M. 2005. Características morfológicas e isoenzimáticas de los cultivares de castaño (*Castanea sativa* Mill.) de Asturias. Monografías INIA. Serie Agrícola n.º 16, 541 pp.
- ZOBEL, B.; TALBERT, J. 1984. Applied forest tree improvement. John Wiley & Sons Inc., N.Y. 505 p. ISBN 0-471-09682-2. ■



Ensayo de progenies de *Juglans* spp, Cangas de Onís, julio 2014.

Recursos fitogenéticos de vid

M. DOLORES LOUREIRO RODRÍGUEZ. Área de Tecnología de los Alimentos. mdolorlr@serida.org

PAULA MORENO SANZ. Research and Innovation Center – Fondazione Edmund Mach. Departmente of Genomics and Biology of Fruit Crops – Grapevine Applied Genomics. San Michele all'Adige (TN), Italy. pamthobu@hotmail.com

BELÉN SUÁREZ VALLES. Jefa del Área de Tecnología de los Alimentos. mbsuarez@serida.org



↑
Viñedo de Cangas.

Introducción

Los **recursos fitogenéticos** se definen como cualquier material genético de origen vegetal con valor real o potencial para la alimentación y la agricultura.

La vid europea (*Vitis vinifera* L.) ha experimentado una enorme erosión genética desde finales del siglo XIX por diversos motivos. Primero fue la plaga de la filoxera, que destruyó más de un millón de hectáreas de viñedo en España. Posteriormente, la homogeneización del mercado del vino, que originó el arranque de viñedos viejos, donde se conservaba una elevada diversidad varietal, para la plantación con un número reducido de cultivares.

La alta competitividad en el mercado vitivinícola ha propiciado que en los últimos años se estén realizando trabajos de prospección, identificación, conservación y evaluación del potencial enológico de cultivares autóctonos de vid, con el fin de obtener productos originales con un nicho de mercado diferenciado.

Los habitantes prerromanos de Asturias conocían el vino pero era muy escaso y sólo lo bebían en los grandes festines. Cuando llegaron los romanos a la actual Asturias en el 29 a.C., no había viñas, y su invasión no produjo ningún impulso en este cultivo (Gómez, 1920).

Existen referencias escritas sobre el cultivo de viñedo desde el siglo VIII. No

obstante, fue con la fundación del Monasterio benedictino de San Juan Bautista de Corias, en el siglo XI, cuando comenzó su expansión (Späni y Cortizo, 2008).

Entre las reseñas históricas de variedades cultivadas en el pasado en Asturias, Suárez (1879) menciona las variedades tintas *Alvarín* negro (Pata de perdiz), Carrasco, Carrasquín, Negrón (o Agudillo) y Verdejo; y las variedades blancas *Alvarín* blanco (o Albillo), Moscatel y Teta de Vaca. Por otro lado, García de los Salmones (1914) cita las siguientes:

- Tintas: Agudillo, Alvarín, Carrasquín, Conrasión, Mallén, Negrín, Negrón, Pardusco Prieto, Pata de Perdiz, Picudo, Rondales, Tinta y Verdejo.
- Blancas: Albarín, Blanca, Bondal, Moscatel, Pedro Jiménez y Verdeja.

Manuel Naredo (1914) cita, como variedades asturianas pre-filoxéricas, Agudiello, *Alvarín* Blanco, *Alvarín* Negro, Carrascón, Carrasquín, Jaen-Moscatel, Moscatel, Negrín, Negrón, Rondal Negro y Verdejo Tinto, y reseña como “*las antiguas variedades del país*” a *Alvarín* Negro, Carrasquín, Negrín y Verdejo. Según este mismo autor, las variedades Alicante, Cabernet, Garnacha Roja, Garnacha Tintorera, Mencía, Malbec y Sumoll fueron introducidas tras la filoxera.

Caracterización molecular

El estudio del patrimonio vitícola de una región conlleva una exhaustiva labor de prospección en viñedos antiguos, en los que se conserva la mayor diversidad varietal. La drástica reducción en la superficie de este cultivo en Asturias desde 5.493 ha en el año 1858 hasta las aproximadamente 100 ha actuales hace suponer que se haya producido una enorme erosión varietal, por lo cual es urgente su localización, estudio y conservación para evitar su desaparición.

Para evaluar los recursos genéticos de vid existentes en la actualidad en Asturias, el SERIDA llevó a cabo entre los años 2003 a 2014 prospecciones en los concejos de Allande, Boal, Candamo,

Cangas del Narcea, Degaña, Grandas de Salime, Ibias, Illano, Las Regueras, Pesoz y Tineo, marcándose alrededor de 350 ejemplares localizados en viñedos antiguos, así como cepas aisladas.

Para cada cepa marcada se recogió la máxima información posible sobre su localización, identidad, procedencia y cultivo, así como síntomas de virosis, enfermedades criptogámicas y plagas. A las cepas marcadas se les realizó un análisis de ADN mediante marcadores microsatélite para proceder a su identificación.

El estudio de marcadores microsatélite es la técnica más adecuada para la identificación varietal de la vid. Las cepas procedentes de las prospecciones en campo se analizaron con nueve marcadores microsatélite. La comparación de los perfiles obtenidos con bases de datos nacionales e internacionales permitió identificar un total de 37 variedades:

- Variedades blancas: Albarín Blanco, Bastardo Blanco, Cayetana Blanca, Chasselas Doré, De José Blanco, Doña Blanca, Furmint, Godello, Italia, Lairén, Moscatel Blanco de grano menudo, Moscatel de Alejandría, Palomino, Roseti, Savagnin Blanc.
- Variedades tintas: Albarín Tinto, Alphonse Lavallée, Aramon, Bequignol, Bobal, Cabernet Sauvignon, Cardinal, Carrasquín, Espadeiro,

↓
Cepa en Doiras.





↑
Cepa en Marentes.

Garnacha Tintorera, Mazuelo, Mencía, Morenillo, Morrastel Bouschet, Mouratón, Petit Bouschet, Plant de Chaudefonds 53, Sumoll, Tempranillo, Verdejo Tinto.

– Variedades rosadas o rojas: Chasselas Rosé, Moscatel Rojo.

Además se localizaron diversos híbridos productores directos y seis variedades que permanecen sin identificar.

Caracterización ampelográfica

El estudio sistemático de las variedades de vid, de sus características botánicas y de sus aptitudes constituye la Ampelografía. Sus objetivos son, por una parte, conocer las aptitudes de cultivo y fisiológicas de cada variedad, y por otra, describirla botánicamente para su correcta identificación y reconocimiento, en todos los lugares, bajo nombres locales diferentes (Galet, 1985).

Paralelamente a la caracterización molecular de las variedades localizadas en el Principado de Asturias, se abordó su descripción ampelográfica *in situ* sobre diez ejemplares (o diez órganos, en el caso de no localizar un número suficiente de plantas) de cada variedad. En dicha descripción se emplearon 58 descriptores ampelográficos de pámpano joven, hoja joven, pámpano, zarcillos, hoja adulta, racimo y baya (O.I.V., 2008).

Se describieron ampelográficamente 32 de las variedades identificadas (Tabla 1).

En resumen, se han identificado en el Principado de Asturias 20 variedades tintas, 15 blancas y dos rosadas o rojas, de las cuales se han descrito ampelográficamente 32. Asimismo, se han localizado diversos híbridos productores directos, así como seis variedades desconocidas,

→
Tabla 1.-Variedades identificadas y descritas ampelográficamente.

*HPD: híbrido productor directo.

Variedades blancas	Variedades tintas	Variedades rojas
Albarín Blanco	Albarín Tinto	Chasselas Rosé
Bastardo Blanco	Alphonse Lavallée	Moscatel Rojo
Chasselas Doré	Aramon	
De José Blanco (HPD*)	Cabernet Sauvignon	
Doña Blanca	Cardinal	
Furmint	Carrasquín	
Godello	Garnacha Tintorera	
Italia	Mazuelo	
Lairén	Mencía	
Moscatel Blanco de grano menudo	Morenillo	
Moscatel de Alejandría	Morrastel Bouschet	
Palomino	Mouratón	
Roseti	Petit Bouschet	
Savagnin Blanc	Plant de Chaudefonds 53	
	Sumoll	
	Verdejo Tinto	

de las cuales se han descrito *in situ* cuatro de ellas, y de las que se ha enviado material vegetal al Banco Nacional de Germoplasma de Vid de El Encín para su conservación.

Teniendo en cuenta la escasa superficie de viñedo en la región, es sorprendente la riqueza varietal que aún posee el Principado de Asturias, en gran parte debido al tradicional destino de este cultivo para el autoconsumo. De ahí la importancia de su conservación para limitar la enorme erosión genética sufrida por este cultivo.

Proyectos financiados

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA: RF2008-00019-C02-01, RF2012-00027-C05-05) y la Fundación para el Fomento en Asturias de la Investigación Científica Aplicada y la Tecnología (FICYT IB05-159).

Agradecimientos

Se agradece la colaboración de los técnicos de las Oficinas Comarcales dependientes de la Consejería competente y de los viticultores en las prospecciones. A los Doctores Félix Cabello, Gregorio Muñoz y M. Teresa de Andrés (Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario), por su inestimable colaboración en la identificación y conservación de las variedades. Y a los doctores Bárbara Buchetti y Gabriele Di Gaspero (Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università di Udine), Manna Crespan (Centro di Ricerca per la Viticoltura di Conegliano), Emilia Díaz (Estación de Viticultura y Enología de Galicia) y Jesús M^a Ortíz (Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid), por la cooperación prestada y por facilitarnos el acceso a sus bases de datos.

Referencias bibliográficas

- GALET, P. (1985). *Précis d'Ampélographie Pratique*. 5^a ed. Imp. Déhan. Montpellier.
- GARCÍA, N. (1914). Ponencia de García de los Salmones. En: *Congreso Nacional de Viticultura*. Pamplona 1912. 512-534.



GÓMEZ, M. (1920) Los siglos de Cangas de Tineo. 1^ª parte. Editorial Reus. Madrid.

NAREDO, M. (1914). Elaboración y conservación de los vinos producidos en la provincia de Oviedo. Abonos minerales más convenientes al cultivo vitícola en las zonas de esta provincia. En: *Congreso Nacional de Viticultura*, 1912. 353 - 356.

OIV. Organización Internacional de la Viña y el Vino (2008). 2^a Edición del Código de los caracteres descriptivos de las variedades y especies de *Vitis*. Disponible en web: <http://www.oiv.int/oiv/info/esplublicationoiv#descriptores>.

SPANI, A. y CORTIZO, T. (2008). El vino de la tierra de Cangas, Asturias. Tragaluz Fotografía S.L. (Oviedo). 235 páginas. ISBN 978-84-612-0113-2.

SUÁREZ, N. (1879). Asturias vinícola. Breves apuntes sobre el vino de Cangas de Tineo. *Revista de Asturias* Año III: 219-221. ■

↑
Brote de vid.

↓
Viñedo de Cangas.

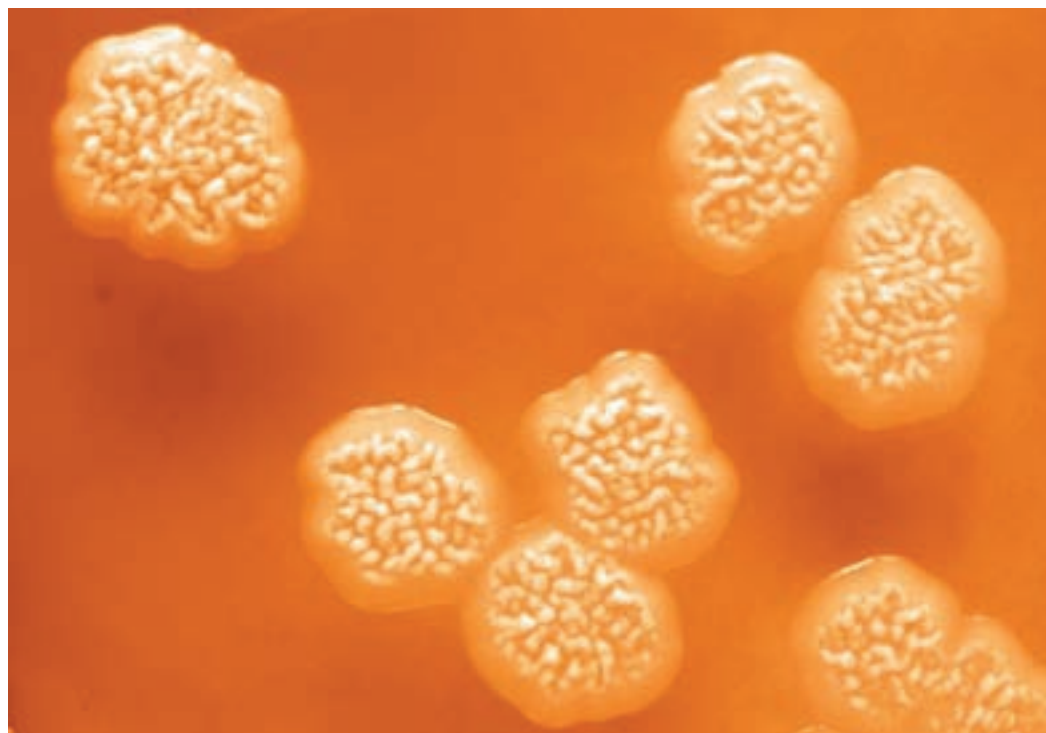


Recursos genéticos microbianos de origen sidrero

ROSA PANDO BEDRIÑANA. Área de Tecnología de los Alimentos. rpando@serida.org

BELÉN SUÁREZ VALLES. Jefa del Área de Tecnología de los Alimentos. mbsuarez@serida.org

→
Colonias de levaduras.



Los microorganismos son el grupo de seres vivos menos conocido y con más potencialidad. Desde tiempos remotos han sido empleados como materiales esenciales de trabajo en la obtención de antibióticos, vitaminas y aminoácidos, en la fabricación de solventes y reactivos y en la elaboración de alimentos (pan, queso, leche y bebidas), entre otras aplicaciones.

La importancia de conocer y conservar la biodiversidad microbiana, y el creciente uso de microorganismos en la biotecnología, han contribuido a reconocer el valor que tienen las Colecciones de

Cultivos Microbianos en la preservación *ex-situ* de los recursos genéticos.

Origen de la Colección

El Área de Tecnología de Alimentos del SERIDA inició la conservación *ex situ* de recursos microbianos de origen sidrero en la década de los 80. El trabajo comenzó con una prospección de microorganismos en ocho lagares asturianos. Dada la importancia que tiene la elaboración de sidra en Asturias se priorizó la conservación de microorganismos autóctonos responsables de las principales

transformaciones que se producen durante la elaboración de sidra: la fermentación alcohólica (levaduras) y la transformación maloláctica (bacterias lácticas). También, se puso énfasis en que los aislados fueran representativos de las zonas geográficas con mayor producción de sidra en Asturias. Fruto de este trabajo fue el inicio de la Colección de Cultivos Autóctonos del SERIDA, constituida por 23 cepas de levaduras y 22 de bacterias lácticas.

El número de microorganismos conservados se ha incrementado a lo largo de estos años, bien con entradas provenientes de nuevas prospecciones en lagares del concejo de Villaviciosa y/o de aislamientos realizados en muestras del Servicio de Análisis externo ofertado por el SERIDA. Actualmente, en la Colección se conservan más de 2.900 aislados autóctonos (Tabla 1).

Metodología de trabajo

Conservación

Para realizar una conservación de microorganismos, en primer lugar hay que disponer de cultivos puros microbianos y, en segundo lugar, de herramientas que aseguren su correcta preservación.

Un cultivo puro es aquél en el que todos los microorganismos provienen de una célula. Para su obtención el microorganismo tiene que aislarse de su nicho ecológico en el que, generalmente, se encuentra formando parte de poblaciones mixtas. Durante este proceso, se debe proporcionar a los microorganismos las condiciones físicas y nutritivas adecuadas que permitan la obtención de colonias aisladas en medios de cultivos sólidos. Por su parte, la conservación de cultivos se debe hacer asegurando su pureza, viabilidad y estabilidad genética. Es decir, hay que evitar que se produzcan contaminaciones durante el proceso de conservación, la tasa de supervivencia de las células debe ser alta y éstas tienen que permanecer genéticamente estables.

En el laboratorio de microbiología del Área de Tecnología de Alimentos, la conservación comienza con la siembra de los microorganismos en medios de cul-

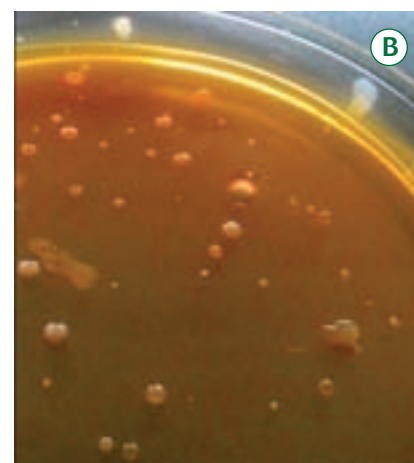
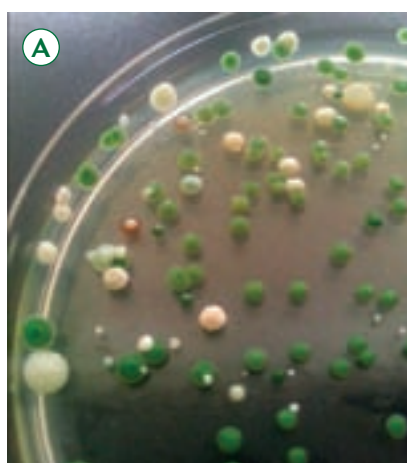
	Prospecciones	Servicio de Análisis	Total
Levaduras	900	324	1.224
Bacterias lácticas	480	1.201	1.681

tivos selectivos, que posibilitan el crecimiento de forma individualizada de los grupos microbianos: levaduras/hongos y bacterias lácticas. La selectividad de los medios utilizados está aportada tanto por el uso de antibióticos como por las diferentes condiciones de crecimiento. Una vez que se dispone de colonias aisladas, y antes de proceder a su conservación, se comprueba su pureza mediante siembra por agotamiento en los mismos medios de cultivo. Cuando se observa una total homogeneidad de colonias, se obtiene un cultivo puro a partir de una colonia.

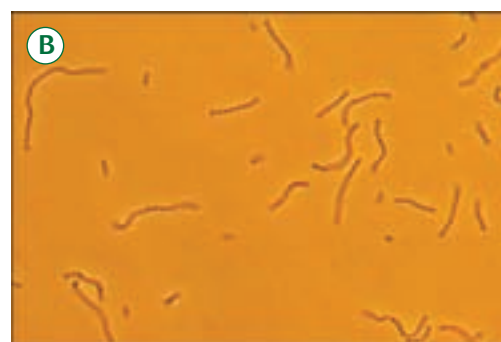
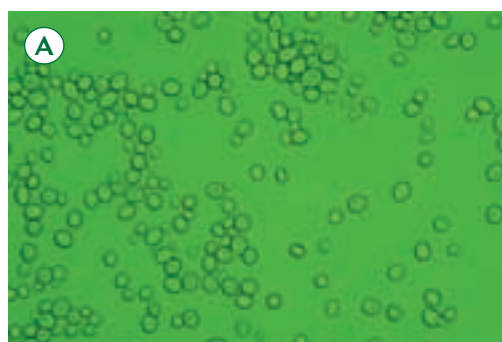
Las células se crecen hasta el final de la fase logarítmica en los medios descritos preparados como caldos, y posteriormente se separan del medio por centrifugación y se resuspenden en un agente crioprotector. La conservación se realiza por congelación de los cultivos, utilizando una tasa de enfriamiento de unos 10°C por minuto hasta alcanzar los -80°C. Los crioprotectores tienen como función minimizar los daños de las células durante la congelación, favoreciendo la vitrificación del agua y evitando la formación de cristales de hielo. De forma rutinaria, y para minimizar la probabilidad de perder aislados, se conservan dos copias de cada microorganismo almacenadas a -80°C (arcón congelador) y a -190°C (nitrógeno líquido).

↑
Tabla 1.-Microorganismos sidreros conservados en la Colección.

↓
Vista macroscópica en medios de cultivos selectivos de poblaciones mixtas de levaduras (A) y bacterias lácticas (B).



→
Vista microscópica de cultivos puros de levaduras (A) y bacterias lácticas (B).



Cuando se necesita recuperar los microorganismos, se descongelan en condiciones controladas (37°C/20 minutos) y se inoculan en los medios de cultivo para revitalizar o rejuvenecer las células. Posteriormente y antes de su uso se realizan controles de viabilidad, pureza y autenticidad de los microorganismos mediante: recuento de viables, observaciones microscópicas, siembras por agotamiento y comprobación de propiedades y características con respecto al microorganismo original.

Identificación

El valor de las colecciones de cultivo microbianas aumenta y se enriquece conforme se realizan actividades de investigación destinadas a la identificación y caracterización de los microorganismos que las constituyen. Desde el año 2000, el Área de Tecnología de los Ali-

mentos viene realizando, de forma paulatina, la identificación y caracterización de aislados de origen sidrero que constituyen la Colección de Cultivos Autóctonos del SERIDA.

En la actualidad la identificación de microorganismos se realiza preferentemente mediante técnicas de biología molecular. Estos métodos analizan el genoma de los microorganismos de manera independiente del estado fisiológico de las células. Tienen como principal ventaja producir menos ambigüedades e incorrecciones que los métodos convencionales de identificación, en los que las características analizadas están fuertemente influenciadas por las condiciones de cultivo.

Las dos técnicas utilizadas para identificar a nivel de género o especie los recursos microbianos son: el análisis de restricción de la región ribosómica 5,8S para las levaduras (Esteve-Zarzoso y col., 1999), y la secuenciación de la región ribosómica 16S en el caso de las bacterias lácticas (Werning y col. 2006). Con estas técnicas se han identificado en sidras asturianas 14 especies de levaduras y nueve de bacterias lácticas (Tabla 2).

Caracterización molecular, fisiológica y tecnológica

Las actividades orientadas a caracterizar, es decir a diferenciar inequívocamente los distintos individuos o cepas de las Colecciones de Cultivo Microbianas y a determinar sus propiedades o atributos suelen abordarse por grupos microbianos. En este sentido, los recursos de origen sidrero se han agrupado en levaduras *Saccharomyces*, levaduras *no-Saccharomyces* y bacterias lácticas.

↓
Tabla 2.-Especies de levaduras y bacterias lácticas identificadas en la Colección.

Levaduras	Bacterias lácticas
<i>Candida glabrosa</i>	<i>Lactobacillus collinoides</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Lactobacillus diolivorans</i>
<i>Candida vini</i>	<i>Lactobacillus hilgardii</i>
<i>Dekkera bruxellensis</i>	<i>Lactobacillus plantarum/pentosus</i>
<i>Hanseniaspora osmophila</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	<i>Oenococcus oeni</i>
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	<i>Pediococcus ethanolidurans</i>
<i>Pichia guilliermondii</i>	<i>Pediococcus parvulus</i>
<i>Pichia membranifaciens</i>	
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	
<i>Saccharomyces bayanus</i>	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
<i>Saccharomycodes ludwigi</i>	



Levaduras <i>Saccharomyces</i>	Levaduras no- <i>Saccharomyces</i>	Bacterias lácticas
Tolerancia al etanol	Poder fermentativo	Carácter homo-heterofermentativo
Poder fermentativo	Producción de aromas	Producción de ácido acético
Producción de aromas	Determinación de actividad pectolítica	Producción de aminas biógenas
Producción de ácido acético	Determinación de actividad proteolítica	Producción de precursores de carbamato de etilo
Producción de dióxido de azufre	Determinación de actividad glicosidasa	Producción de polisacáridos extracelulares
Producción de ácido sulfhídrico		Determinación de fenotipo ropy
Determinación del factor killer		Rendimiento transformación maloláctica
Capacidad de floculación		
Características espumantes		
Determinación de actividad glicosidasa		

←
Tabla 3.-Características fisiológicas y tecnológicas analizadas.

La diferenciación de cepas se realiza mediante métodos moleculares. Así en el caso de las levaduras *Saccharomyces* se utiliza el análisis de restricción del ADN mitocondrial (Querol y col., 1992). Dicha molécula posee un alto grado de variabilidad en las levaduras de este género y es muy estable durante los procesos de multiplicación. Las diferentes cepas se evidencian, mediante electroforesis, por la presencia de distintos perfiles de digestión. Para las levaduras no-*Saccharomyces* y bacterias lácticas el polimorfismo entre individuos se evalúa por la presencia o ausencia de fragmentos de ADN amplificado cuando se utilizan cebadores o iniciadores de secuencia arbitraria y corta longitud (Zapparoli y col. 2000; Bujdosó y col. 2001).

La caracterización fisiológica y tecnológica de cepas genera información que puede ser utilizada para mejorar los procesos de elaboración y la calidad de los productos. Para cada grupo microbiano se han analizado características acordes a las actividades o funciones que poseen durante la transformación del mosto de manzana.

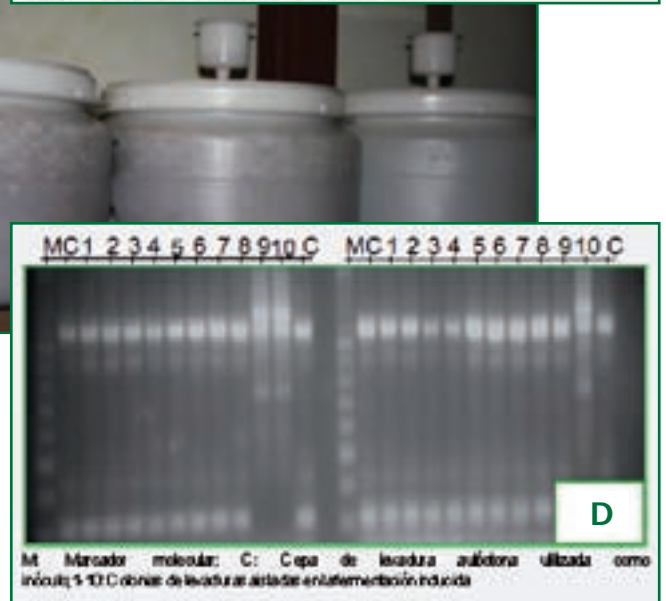
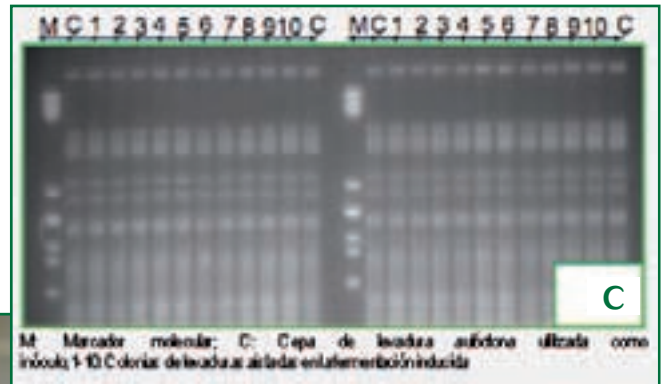
Para las levaduras *Saccharomyces*, principales responsables de la fermentación de los azúcares del mosto, se han analizado características consideradas criterios discriminantes a la hora de realizar una selección de iniciadores o *starters* (Tabla 3). Así por ejemplo, en este género se ha evaluado la capacidad de las distintas cepas para producir y tolerar etanol, producir ésteres, alcoholes superiores y compuestos volátiles que influ-

yen en el aroma de las sidras y otros aspectos como la producción de toxina *killer* o las características espumantes. En el caso de las levaduras no-*Saccharomyces*, *Saccharomyces* productoras de bajas graduaciones alcohólicas y altas concentraciones de sustancias volátiles que influyen en el aroma de los fermentados, se ha analizado su tolerancia al etanol y la producción de actividades enzimáticas. Mientras que, para las bacterias lácticas responsables de la transformación maloláctica y de importantes alteraciones en sidra (picado láctico, picado alílico y filado) las características determinadas han sido: la producción de sustancias alterantes y nocivas para la salud y la capacidad de metabolizar el ácido málico en cepas *Oenococcus oeni* y *Lactobacillus plantarum/pentosus*.

Utilización del material conservado

El mantenimiento y la incorporación de nuevos recursos genéticos microbianos en la Colección de Cultivos Autóctonos del SERIDA permite conservar la biodiversidad de los recursos microbianos sidreros, conocer la ecología microbiana de las elaboraciones de sidra, y disponer de material para realizar investigaciones que permitan ahondar en el conocimiento de las características de las diferentes cepas. Asimismo, ha propiciado el uso de recursos microbianos de origen sidrero, en la mejora de procesos de elaboración de productos como: la sidra natural, la sidra con segunda fermentación en botella o el aguardiente de magaya.





↑
Utilización de recursos microbianos en la elaboración de aguardientes de magaya. **3A:** Obtención de biomasa de levadura; **3B:** Fermentaciones inducidas con distintas cepas autóctonas; **3C** y **3D:** Determinación del grado de implantación de los inóculos.

Proyectos financiados

La conservación y caracterización de microorganismos de origen sidrero se ha realizado con ayuda de los proyectos RM2006-00008, RM2009-00005 y RTA2009-00111 financiados por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) con fondos FEDER y PC04-24 financiado por la Fundación para el Fomento en Asturias de la Investigación Científica Aplicada y la Tecnología (FICYT).

Referencias bibliográficas

WERNIG, M. L.; IBARBURU, I.; DUEÑAS, M. T.; IRAS-TORZA, A.; NAVAS, J.; LOPÉZ, P. (2006). *Pediococcus parvulus* gtf Gene encoding the gtf glycosyltransferase and its application for specific PCR detection of β -D-glucan-producing bacteria in foods and beverages. *J. Food Protection*. 69 (1): 161-169.

BUJIDOSÓ, G.; CHRISTOPH, M.; EGLI, M.; HENICK-KLING, T. (2001). Characterization of *Hanseniaspora (Kloeckera)* strains isolated in finger lakes wineries using physiological and molecular techniques. *Food Technol. Biotechnol.*, 39: 83-91.

ESTEVE-ZARSOSO, B.; BELLOCH, C.; URUBURU, F.; QUEROL, A. (1999). Identification of yeast by RFLP analysis of the 5.8S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 341-344.

QUEROL, A.; BARRIO, E.; HUERTA, T.; RAMON, D. (1992). Molecular monitoring of wine fermentations conducted by active dry yeast strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (9): 2948-2953.

ZAPPAROLI, G.; REGUANT, C.; BORDONS, A.; TORRIANI, S.; DELLAGLIO, F. (2000). Genomic DNA fingerprinting of *Oenococcus oeni* strains by pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified polymorphic DNA-PCR. *Current Microbiol.* 40: 351-355. ■

Recursos zoogenéticos. Banco de razas domésticas autóctonas en peligro de desaparición

CARLOS O. HIDALGO ORDÓÑEZ. Área de Selección y Reproducción Animal. cohidalgo@serida.org

CAROLINA TAMARGO MIGUEL. Área de Selección y Reproducción Animal. ctamargo@serida.org

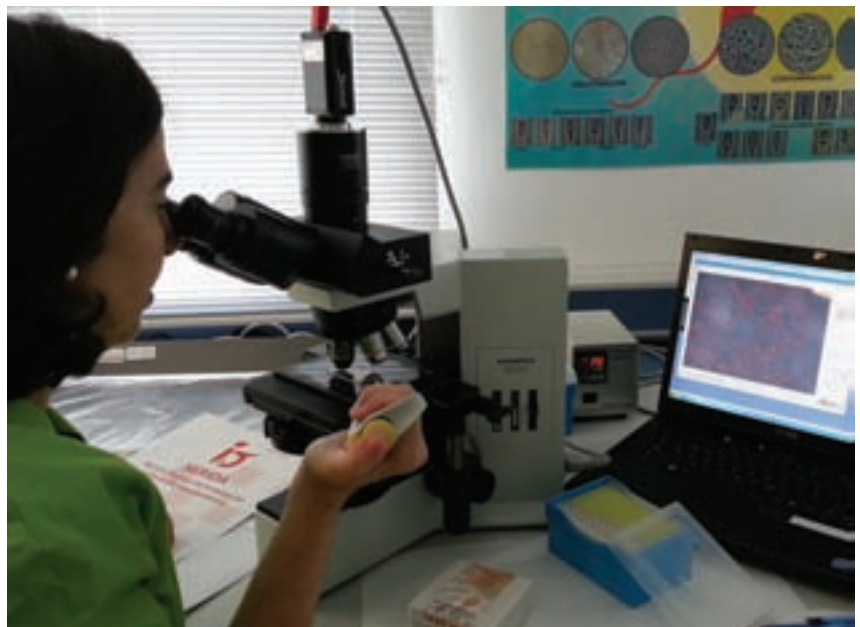
ÁNGEL FERNÁNDEZ GARCÍA. Área de Selección y Reproducción Animal. angelfg@serida.org

MARÍA JOSÉ MERINO HERNANTES. Área de Selección y Reproducción Animal

Precedentes y situación actual

En los últimos años se asiste en España a una rápida pérdida y desaparición de razas de ganado de menor especialización productiva, que se explotaban con buenos rendimientos hasta hace pocos años, y que están siendo desplazadas por razas más productivas. Estas razas, aunque poco competitivas en el plano productivo, constituyen una importante reserva de variabilidad genética, que sería totalmente irrecuperable en caso de desaparición. Además, las razas locales presentan con frecuencia un mayor grado de adaptación a condiciones desfavorables o extremas, por lo que son más indicadas para el aprovechamiento de los recursos naturales de esas zonas, siendo además capaces de proporcionar productos alimentarios diferenciables de alta calidad y por tanto susceptibles de lograr un valor añadido.

Por todo ello, existe la obligación de conservar el patrimonio genético con todas las herramientas disponibles, lo que ha venido constituyendo una preocupación constante de la FAO. Una vez identificados y caracterizados los recursos genéticos de un país, se pueden conservar *in situ* o *ex situ*. Los métodos *in situ* mantienen a los animales en el hábitat donde están adaptados, mientras que los métodos *ex situ* obtienen los recursos genéticos animales de su medio ambiente tradicional para conservarlos fuera del



mismo. La conservación *ex situ* incluye, por un lado, el mantenimiento de poblaciones de animales cerradas fuera del ambiente en que se han desarrollado y por otro lado, la recogida y congelación de semen, óvulos y/o embriones, con la intención de utilizarlos en programas de cruzamiento en el futuro (Holt y col., 1996), mediante la instauración de Bancos de Recursos Zoogenéticos (BRZ). La criopreservación de gametos y embriones tiene por finalidad mantener la viabilidad durante un ciclo de congelación, descongelación y almacenamiento en ni-

↑
Veterinaria del Área de
Selección y Reproducción
Animal.

trógeno líquido (Curry, 2000), siendo el método más económico de conservación, (Wildt y col., 1997), pero debe ser utilizado como complemento y seguro de la conservación *in situ*, parte asumida por los criadores (ERPF, 2003).

Los BRZ tienen gran importancia en la recuperación de las razas y líneas abandonadas y garantiza su permanencia en caso de una epidemia, por el riesgo creciente de epizootias o enfermedades emergentes que obliguen a su sacrificio (FAO, 1998). Existen razones diversas (económicas, sociales, políticas, religiosas, etc...) por las que determinadas especies han de estar incluidas en un BRZ y estos motivos para su inclusión son, a menudo, interdependientes. Pero independientemente de las razones que llevan a la instauración de un banco de estas características, hay que tener claro que, mientras los motivos del almacenamiento pueden cambiar con el tiempo, los productos almacenados no se alteran, por lo que el BRZ tiene un enorme potencial para múltiples aplicaciones, incluso no previstas en el momento de su creación.

En la recuperación de las razas autóctonas han jugado un papel determinante diversos colectivos, como las asociaciones de criadores, que las fomentan, con el reconocimiento oficial oportuno, y gestionan los libros genealógicos, con el apoyo de distintas administraciones. Estas últi-

mas intervienen, tanto por medio de ayudas directas, como con la participación y promoción de proyectos de investigación y desarrollo y con la firma de convenios y acuerdos de colaboración. Desde el Área de Selección y Reproducción Animal del SERIDA hemos venido trabajando en las últimas décadas en la conservación de recursos genéticos de razas autóctonas; por un lado, mediante el desarrollo de programas de mejora genética y, hoy en día, con el BRZ de razas domésticas autóctonas en peligro de desaparición del Principado de Asturias. Se pretende, en definitiva, colaborar en la pervivencia de estas, así como en el desarrollo de biotecnologías reproductivas que propicien la conservación de la biodiversidad.

El origen del Banco en Asturias se inicia en el año 2004 con el desarrollo del **Proyecto INIA RZ2004-00031**, "Establecimiento de un banco de conservación de especies domésticas en peligro de extinción", que se desarrolló hasta 2007. Gracias a él se establecieron las bases del trabajo conjunto con los diferentes sectores de la región implicados: la Administración Autonómica, desde la Dirección General de Ganadería y Agroalimentación de la Consejería de Medio Rural y Pesca; las asociaciones de ganaderos (la Asociación Española de Criadores de ganado vacuno selecto de la raza Asturiana de la Montaña - ASEA-MO, Asociación de criadores de ponis de raza Asturcón - ACPRA, Asociación de Criadores de Cabra Bermeya - ACRI-BER, Asociación de Criadores de Oveja Xalda de Asturias - ACOXA y, la Asociación de Criadores del Gochu Asturcelta - ACGA, tras su reconocimiento en 2007) y las Administraciones Locales. Dicho proyecto nos permitió comenzar a trabajar en los métodos de obtención de semen y en los protocolos para su congelación, tratándose, todas ellas de razas rústicas, no adiestradas al uso de vagina artificial y se determinaron, tanto las características de los eyaculados, como su capacidad de criopreservación. Hay que mencionar la ayuda facilitada en el **Proyecto INIA RZP 2009-00002-C02-01** "Mantenimiento y ampliación del banco de recursos zootenéticos de razas domésticas autóctonas en peligro de extinción en Asturias",

↓
Recogida de semen de toro "Asturiana de la Montaña".



que financió durante tres años los gastos generados en la conservación de las muestras ya obtenidas.

Hemos continuado con los trabajos de mantenimiento y ampliación del número de donantes y muestras que integran en la actualidad el BRZ, gracias a la concesión del **Proyecto INIA RZ2010-00010** "Conservación *ex situ* mediante la utilización de técnicas de reproducción animal asistida de las razas de ganado autóctono en peligro de desaparición del Principado de Asturias", con fin de aumentar la variabilidad genética.

En la actualidad, nos encontramos en el desarrollo del **Proyecto INIA RZP2013-0006-00-00**, que además de mantener las dosis seminales y los embriones hasta ahora conservados de las razas expuestas, pretende la realización de determinaciones de su viabilidad a lo largo del tiempo de almacenamiento, para garantizar su calidad, en caso de un eventual uso.

La Consejería de Agroganadería y Recursos Autóctonos del Principado de Asturias, mediante Resolución de 6 de marzo de 2013, autorizó el banco de germoplasma de razas domésticas autóctonas como centro de recogida y almacenamiento de semen y embriones bovinos, ovinos, caprinos, porcinos y de équidos, nombrando responsable del mismo a Carlos O. Hidalgo Ordóñez, Jefe de Área de Selección y Reproducción Animal del SERIDA, según el R.D. 841/2011, por el que se establecen las condiciones básicas de recogida, almacenamiento, distribución y comercialización de material genético de dichas especies.

Metodología de trabajo

Criopreservación de dosis seminales

La FAO en su "Segundo Documento de Líneas Directrices para elaboración de planes nacionales de gestión de los recursos genéticos de animales de granja. Gestión de pequeñas poblaciones en peligro de extinción" recomienda un número mínimo de machos (25 en todas las especies que componen el BRZ) y de dosis seminales por macho para cada una de



las especies para poder considerar que está mantenida: 538 dosis de cada toro, 14.280 dosis por caballo, 398 dosis de cada morueco, 270 dosis en el caso del macho cabrío y 1.235 dosis seminales de cada verraco. Así pues, cada año las asociaciones de ganaderos de las respectivas razas seleccionan por sus características genéticas y morfológicas los donantes que interesa que formen parte del BRZ. Tras obtener un diagnóstico negativo en las pruebas sanitarias que dicta la autoridad competente en sus explotaciones, son trasladados a las instalaciones del Centro de Biotecnología Animal (CBA) de Deva en Gijón, excepto los toros de Asturiana de Montaña que se alojan en el Centro de Recogida de Semen de Cenero (Gijón). Allí superan un período de adaptación, tras el cual comenzamos su adiestramiento para la recogida de semen (mediante vagina artificial, excepto en porcino que es con mano enguantada). Cuando esto último es posible, determinamos las características de los eyaculados en el laboratorio y, si superan los valores mínimos necesarios, los procesamos para su congelación.

De modo resumido, en el caso del semen bovino, se añade un diluyente comercial, pero en los eyaculados porcinos, equinos, ovinos y caprinos se precisa su centrifugación, para la eliminación del plasma seminal y hay que elaborar el di-

↑
Recogida de semen de Xalido.



↑
Recogida de semen de
Gochu Asturcelta.

luyente de congelación apropiado. De manera general, éste se compone de un azúcar, como fuente de energía, sales para conseguir una presión osmótica adecuada, un tampón para neutralizar los cambios de pH del catabolismo espermático, un crioprotector (glicerol), yema de huevo o leche para atenuar el choque por frío y antibióticos para controlar el crecimiento bacteriano, entre otros compuestos. En todos los casos, se desciende la temperatura hasta los 5° C y se congelan las dosis seminales según una rampa de descenso de temperatura propia para cada especie en un biocongelador programable.

Producción de embriones in vivo

El Centro de Biotecnología Animal de Deva (Gijón) dispone de instalaciones para hembras donantes de Asturiana de la Montaña y la recogida y procesado de embriones. En este caso, los objetivos recomendados por la FAO son la obtención de 206 embriones, a partir de 25 hembras donantes que serán inseminadas con el mayor número posible de padres (25).

Los embriones se obtienen por lavado uterino de las donantes, que han sido previamente superovuladas con un preparado comercial de gonadotropinas de extractos de pituitaria porcina, FSH-P. Los embriones obtenidos de cada colecta se clasifican y procesan siguiendo las nor-

mas de la International Embryo Transfer Society (IETS) y, posteriormente, se congelan para su inclusión en el banco. Al igual que en el caso de la producción seminal, las hembras que vayan a ser utilizadas como donantes son sometidas a todos los controles sanitarios exigidos por la legislación vigente. También se realizan análisis sanitarios individuales para garantizar que los animales donantes estén libres de agentes patógenos (especialmente de aquellos transmisibles por los embriones) tres meses antes de las colectas, cumpliendo las exigencias obligatorias recomendadas por la FAO (1998).

Caracterización y evaluación de los eyaculados

Como hemos dejado constancia, a cada eyaculado se le exige unos mínimos requisitos de calidad (volumen, concentración, motilidad subjetiva y objetiva, integridad del acrosoma y morfoanomalías), que varían en función de la especie de la que se trate, que establecimos con la referencia en los trabajos realizados con otras razas autóctonas de nuestro país, cuya enumeración bibliográfica sería muy extensa. Hay que destacar que tratándose de razas rústicas, el porcentaje de éxito en el procesamiento, que definimos como los eyaculados efectivamente procesados del total de eyaculados recogidos, ha sido muy alto en todas las razas asturianas.

Así mismo, antes de considerar las dosis seminales congeladas como parte real del BRZ, hemos venido realizando pruebas de calidad seminal de cada lote tras su descongelación, evaluando hasta ahora el vigor y la calidad del movimiento espermático, la integridad funcional de la membrana plasmática (mediante el test de endósmosis) y la integridad del acrosoma.

Los productos almacenados en los BRZ tienen un valor incalculable, que se incrementa con el tiempo, siendo necesario asegurar su continua viabilidad (Segura-Correa y col., 2001) y debiendo posibilitarse controles periódicos de la misma. Por ello, en la actualidad nos planteamos la realización de pruebas de calidad seminal, con el uso de nuevas tecno-

logías, para lo que es necesario la descongelación de una muestra representativa de las muestras almacenadas.

Los nuevos sistemas computerizados para el análisis de la motilidad y de la morfometría espermática, junto con la citometría de flujo, permiten adquirir, de forma rápida y objetiva, datos precisos sobre múltiples parámetros relativos a características estructurales y funcionales de los espermatozoides. Aunque no existe ningún método que por sí mismo sea capaz predecir la capacidad fecundante del semen (Rodríguez-Martínez, 2000), las modernas técnicas automatizadas son fiables, de fácil ejecución y elevada repetibilidad, por lo que permiten estandarizar y objetivar la contrastación espermática.

Los **sistemas CASA**, del inglés Computer Assisted Sperm Analysis, tratan de eliminar la subjetividad inherente a la evaluación microscópica de la motilidad espermática (Verstegen y col., 2002), constando de un microscopio de contraste de fases conectado a una cámara de vídeo, que envía la imagen desde el microscopio a un monitor de TV. Posteriormente, la imagen es enviada desde el monitor a un ordenador, donde un analizador digital de imagen captura varias fotografías seriadas de cada campo microscópico seleccionado, normalmente en menos de 1 segundo. El software discrimina a los espermatozoides de otras partículas que puedan aparecer en la imagen por su tamaño, y analiza la trayectoria recorrida por cada espermatozoide individual durante esa fracción de segundo. Al final del proceso, el CASA proporciona toda una serie de datos relativos a la velocidad y trayectoria de cada espermatozoide individual, con lo que permite obtener información precisa, objetiva y repetible, sobre el porcentaje de células móviles presentes en la muestra y la calidad media de ese movimiento (Amann, 1989; Anzar y col., 1991).

La **citometría de flujo** es una técnica que permite identificar, cuantificar y separar las distintas subpoblaciones celulares presentes en una muestra de células en suspensión, en función de los distintos patrones de tinción adquiridos tras el



marcaje con diferentes colorantes fluorescentes, que se unen a estructuras celulares específicas o se acumulan selectivamente en compartimentos intracelulares (Graham, 2001; Muño, 2007; Martínez-Pastor y col., 2010). A lo largo de las dos últimas décadas, la citometría de flujo se ha convertido en una herramienta de gran utilidad para la investigación de poblaciones espermáticas.

Material conservado

Existencias

Tal como se puede ver en la tabla 1, el Banco consta, a día de hoy, de un total de un total de 17.920 dosis seminales de 10 donantes de la raza equina Asturcón, recogidas mediante vagina artificial; así mismo, contamos con 23.491 dosis seminales procedentes de 15 verracos de raza Gochu Asturcelta recogidas mediante el método de mano enguantada. Respecto a los pequeños rumiantes, en la actualidad, se almacenan 4.589 dosis seminales de 14 machos cabríos de raza Bermeya, parte recogidas mediante electroeyaculación y parte mediante vagina artificial y 4.235 dosis seminales de 6 donantes de raza ovina Xalda recogidas con vagina artificial (hay que considerar que el año 2013 fue el primero en el que trabajamos con estos últimos, por diferentes limitantes previos). En el caso de la raza bovina Asturiana de

↑
Recogida de semen de
Asturcón.

→
Tabla 1.-Existencias en el BRZ del CBA de Deva.

Raza	N.º de donantes	N.º dosis seminales	Método de recogida
Asturcón	10	17.920	Vagina artificial
Gochu Asturcelta	15	23.491	Mano enguantada
Bermeya	14	4.589	Electroeyaculación y vagina artificial
Xalda	6	4.235	Vagina artificial
Asturiana de la Montaña *	44	151.445	Vagina artificial

* También forman parte del BRZ 314 **embriones congelados** procedentes de cruzamientos realizados entre 23 hembras donantes y 22 machos.

la Montaña, la colección actual consta de un total de 314 embriones congelados, procedentes de distintos cruzamientos realizados entre 23 hembras donantes y 22 machos de la raza; además, contamos con un total de 151.445 dosis seminales obtenidas de 44 toros.

Conservación

El BRZ actual se encuentra ubicado en una sala de uso exclusivo, en los siguientes contenedores, correctamente identificados, ubicados en el CBA de Deva:

- 2 recipientes criogénicos con capacidad de 50 l., en uno de ellos se alojan las dosis seminales de raza ovina Xalda y en el otro las dosis seminales de raza caprina Bermeya.
- 2 recipientes criogénicos de 50 l. de capacidad, donde se ubican los embriones de raza bovina Asturiana de la Montaña.
- 1 recipiente criogénico de 500 l. de capacidad, en los que ubicamos las dosis seminales de la raza porcina Gochu Asturcelta.
- 1 tanque criogénico de 500 l. de capacidad, en el que actualmente se encuentran almacenadas las dosis seminales de la raza equina Asturcón.
- 1 contenedor criogénico de 1.000 l. de capacidad en el que se ubican las dosis seminales de la raza bovina Asturiana de la Montaña.

Además, la instalación consta básicamente de un depósito criogénico o silo, que se encuentra en el exterior, y la correspondiente red de distribución del gas. En la sala donde están los contenedores se colocaron analizadores de aire am-

bientales, con sensores que hacen saltar la alarma cuando el nivel de oxígeno es inferior al 19%, momento en el que se accionaría el sistema de extracción de gases. Para garantizar la **seguridad de las muestras** que se encuentran almacenadas es fundamental el suministro regular de nitrógeno líquido, tras una inspección periódica de los mismos, **restringiendo el acceso del personal** a la sala donde se encuentra el BRZ, siendo el sistema de llenado, en la actualidad, totalmente manual. Lo ideal sería la instalación de equipos de alarma de detección del nivel de nitrógeno líquido en los contenedores de depósito, con los que actualmente no contamos.

El **personal responsable del mantenimiento de las muestras del BRZ** tiene una formación adecuada en el manejo del nitrógeno líquido, habiendo sido informado de las normas de trabajo que garantizan su seguridad y la de dichas muestras. Además, se utilizan todos los elementos de seguridad necesarios para evitar percances (gafas de protección, mandiles, guantes, pinzas, calzado de seguridad...).

Las muestras que componen el banco han sido **identificadas de modo seguro** según normativa (R.D. 841/2011, en su artículo 5, siendo un centro con restricciones al comercio, marcándose las muestras con una "N" previa).

En la actualidad, existe un **doble sistema de control de la ubicación de las muestras almacenadas**: soporte papel y soporte informático, mediante el uso del programa GERMBANK[®]. Este último es una aplicación informática patentada por el INIA para el control del germoplasma animal, que permite el control exacto de

las muestras del banco, definiendo aquellas por especie y por tipo de material biológico. Consta de diferentes niveles de accesibilidad o perfiles de trabajo. Existen unos datos comunes para todos los tipos de muestras que son: identificación de la muestra, especie, raza, identificación del donante, investigador responsable, fecha de entrada y datos de control sanitario. Además, por ejemplo, en nuestro caso hemos de completar las siguientes “pestañas”: obtención, congelación, ubicación, descongelación, control sanitario, otros datos y archivos asociados (fotos, vídeos); cada una de ellas con los datos obligatorios que incluye. De manera periódica, se realizan copias de seguridad de dichos archivos. Además, se dispone de un sistema de registro del relleno de los tanques, que incluye contenedores rellenos, fecha y firma del responsable.

Por último, es importante destacar que, en un programa de criopreservación, es necesario reducir el riesgo de pérdida de la colección almacenada, debido a eventuales desastres, tales como incendios, terremotos, o simplemente mal manejo o funcionamiento del banco de germoplasma (Valdecillo y col., 2011). Por lo tanto, se debe disponer de duplicados en un lugar distante al menos 400 km. del banco actual, según recomienda la FAO; en este caso, en el Banco de Germoplasma Nacional, sito en Colmenar Viejo (Madrid). Este trabajo, supondría el cambio de la ubicación actual de las muestras que se consideren de cada raza, tanto físicamente, como en el GERM-BANK[®], ya que, en la actualidad, no hay duplicados de la colección.

Hay que destacar que los BRZ no son estáticos, pudiendo considerarse la salida de material almacenado, pero se ha de estudiar los motivos para la misma, dejando constancia de ella.

Cooperación con otros bancos de recursos

En nuestro país, hay numerosos estudios previos que implican la obtención, mediante el adiestramiento previo y el posterior procesamiento y congelación

de semen obtenido de diferentes razas autóctonas por diversos equipos que llevan años trabajando con ellas, en colaboración con los diversos núcleos de conservación en las comunidades autónomas. Cabe citar, sólo a modo de ejemplo, el grupo del Instituto de Ciencia y Tecnología Animal de la Universidad Politécnica de Valencia, el Grupo de Biología de la Reproducción de la Universidad de Castilla-La Mancha, los investigadores del Instituto de Investigación en Recursos Cínicos (IREC), la Unidad de Veterinaria del Departamento de Genética de la Universidad de Córdoba, el Departamento de Reproducción Animal y Recursos Zoogenéticos de INIA, el Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA) de Aragón, los Grupos de Reproducción Animal de las Facultades de Veterinaria de la Universidad de León y de la Universidad de Murcia, la Diputación de Huelva, el Centro de OVIGEN en Zamora, de la Escuela Superior de Ingeniería en Huelva, entre otros. También tiene gran importancia el trabajo realizado en los antiguos Centros de Selección y Reproducción Animal (CENSYRAS), que tienen experiencia desarrollada durante años en las metodologías apropiadas en la recogida y procesamiento de germoplasma.

Con muchos de ellos y algunos más, hemos contactado, tanto en nuestro período de formación, como en la actualidad para intercambiar los resultados obtenidos en nuestras investigaciones.

Previsiones de futuro

En nuestra opinión, el futuro debería encaminarse a tratar de completar las dosis seminales en las razas en las que se está trabajando actualmente, comenzar a conservar embriones de todas las que no se haya iniciado esta actividad, todo ello siguiendo las directrices de la FAO, y continuar con las pruebas que garanticen la viabilidad del material almacenado.

Cabe destacar, por último, que hay numerosos estudios en varias especies que han determinado el efecto de diversos factores, como la edad y la raza del donante, el método de recogida y el personal encargado de la misma, la estación del

año en la que fue recogido, o el intervalo entre colectas sobre las características seminales (en bovino, por ejemplo, Koivisto y col., 2009; Fiaz y col., 2010; Mandal y col., 2010, entre otros). Considerando lo anterior y dada la variabilidad de dichos factores en el trabajo que hemos venido realizando, los estudios de la calidad seminal postdecongelación propuestos, podrán determinar la posible influencia de dichas variables en la capacidad de criopreservación seminal. Con ello, en la medida de lo posible, podremos orientar para el trabajo futuro qué edades, métodos de recogida, estación del año o intervalo entre colectas son de elección prioritaria para los donantes que se propongan para ampliar la variabilidad del BRZ actual.

Referencias bibliográficas

AMANN, R. P. 1989. Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? *Journal of Andrology* 2 (10), 89-98.

ANZAR, M.; HASSAN, M. M.; GRAHAM, E. F.; DEYO, R. C. M.; SINGH, G. 1991. Efficacy of the Hamilton Thorn motility analyzer (HTM-2030) for the evaluation of bovine semen. *Theriogenology*. 2 (36), 307-317.

CURRY, M. R. 2000. Cryopreservation of semen from domestic livestock. *Rev Reproduction* 5: 46-52.

ERPF. 2003. Guidelines for the constitution of national cryopreservation programmes for farm animals, Hiemstra S.J. (Ed.), Publication n.º 1 of the European Regional Focal Point on Animal Genetic Resources.

FAO. 1998. Una llamada a la acción. La estrategia mundial para la gestión de los recursos genéticos de los animales de granja.

FAO. 2002. Segundo documento de líneas directrices para la elaboración de planes generales de gestión de los recursos genéticos de animales de granja, gestión de pequeñas poblaciones en peligro. Roma, Italia.

FAZ, M.; USMANI, R. H.; ABDULLAH, M.; AHMAD, T. 2010. Evaluation of semen quality of Holstein Friesian and Jersey bulls maintained under subtropical environment. *Pakistan Veterinary Journal* 30, 75-78.

GRAHAM, J. K. 2001. Assessment of sperm quality: a flow cytometric approach. *Animal Reproduction Science* 68, 3-4: 239-247.

HOLT, W. V.; BENETT, P. M.; VOLOBUEV, V.; WATSON, P. F. 1996. Genetic resources banks in wildlife conservation. *Journal of Zoology* 238, 3, 531-544.

KOIVISTO, M. B.; COSTA, M. T. A.; PERRI, S. H. V.; VICENTE, W. R. R. 2009. The effect of season on semen characteristics and freezability in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls in the South Eastern region of Brazil. *Reproduction in Domestic Animals* 44, 587-592.

MANDAL, D. K.; KUMAR, M.; TYAGI, S. 2010. Effect of age on spermiogram of Holstein Friesian Sahiwal crossbred bulls. *Animal* 4, 595-603.

MARTÍNEZ-PASTOR, F.; MATA-CAMPUZANO, M.; ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ, M.; ÁLVAREZ, M.; ANEL, L.; PAZ, P. 2010. Probe and technique for sperm evaluation by flow cytometry. *Reproduction in Domestic Animals* 45(2) 67-78.

MUÑO OTERO, R. Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas CASA y citometría de flujo: identificación de subpoblaciones espermáticas. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Octubre de 2007.

RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H. 2007. State of the art in farm animal sperm evaluation. *Reproduction, Fertility and Development* 19: 91-101.

SEGURA-CORREA, J.C.; MONTES-PÉREZ, R. C. 2001. Razones y estrategias para la conservación de los recursos genéticos animales. *Revista Biomédica* 12:196-206.

VALDECILLO, A.; MIRÓ-ARIAS, A.; NAVAS, F.; DE LA FUENTE, A.; CAMACHO, M. E.; DELGADO, J. V. 2011. Situación actual del banco de genoplasma andaluz. Libro de Actas Iberoamericanas de Conservación Animal, AICA, volumen 1, páginas 128-132.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. 2002. Computer assisted semen analyzer in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology*. 57, 149-179.

WILDT, D. E.; RALL, W. F.; CRISTSER, J. K.; MONFORT, S. L.; SEAL, U. S. Genome resource banks. Living collections for biodiversity conservation. *Bioscience* Vol. 47, n.º 10, Nov. 1997. ■

↓
BRZ de razas domésticas autóctonas del Principado de Asturias.



Actividad del SERIDA en conservación de recursos genéticos del Principado de Asturias

Recursos Fitogenéticos		N.º de materiales
Judía		407
Escanda y otros trigos		105
Hortícolas		170
	Lechuga	55
	Cebolla	58
	Haba	8
	Berza	15
	Nabo	2
	Panizo	2
	Guisante	12
	Pimiento	10
	Calabaza	8
Avellano		63
Arándano		84
Maíz		27
Manzano		803
	De sidra	603
	De mesa	192
	Otros malus	8
Castaño		93
Cerezo		120
Nogal		283
Vid*		37
		2.192
Microorganismos sidreros		N.º de materiales
Levaduras	1.224	
Bacterias lácticas	1.681	
		2.905
Recursos Zoogenéticos		N.º dosis seminales
Asturcón		17.920
Gochu Asturcelta		23.491
Bermeya		4.589
Xalda		4.235
Asturiana de la Montaña **		151.445
		201.680

* Variedades identificadas

** También forman parte del Banco de Recursos Zoogenéticos 314 embriones congelados



SERIDA

Servicio Regional de Investigación
y Desarrollo Agroalimentario

Estructura Territorial

Para desarrollar sus cometidos, el SERIDA dispone de varios centros, estaciones y fincas experimentales distribuidas en los municipios asturianos de Villaviciosa, Gijón, Grado, Illano y Quirós.



Serida Villaviciosa



Serida Deva.
Centro de Biotecnología Animal



Estación experimental de
La Mata, Grado



Estación experimental de
"El Carbayal", Illano



Finca experimental
"Cueva Palacios", Quirós



Finca experimental
"Priesca", Villaviciosa



Investigación agropecuaria, alimentaria y forestal