

# INVESTIGACIÓN IMIDA

REVISTA DIVULGATIVA DEL INSTITUTO MURCIANO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO AGRARIO Y ALIMENTARIO

Número 1 Año 2007 (Octubre-Diciembre). Revista trimestral.

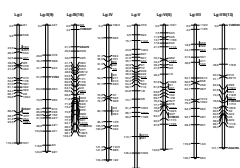
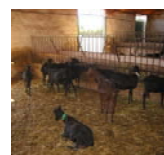
## Sumario:

- De la Estación Sericícola al IMIDA.



## Proyectos I+D a fondo:

- Alimentación de pequeños rumiantes con subproductos de plantas aromáticas como fuente de antioxidantes endógenos. Mejoras en la producción y calidad de carne y leche.



- Obtención de un mapa genético, físico y funcional y detección de genes para estrés biótico y abiótico en la vid.

## Artículos IMIDA:

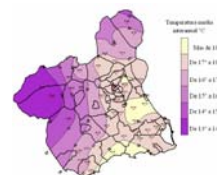


- Consideraciones sobre las infraestructuras actuales en los cultivos protegidos.

- Embriogénesis somática y Transformación Genética de la vid.



- Evolución anual de evapotranspiración de referencia (Penman-Monteith-FAO) y variables agrometeorológicas utilizadas para su estimación.



- La colección de limonero del IMIDA



Título: Investigación IMIDA.

Edita: IMIDA.

© Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario.

ISSN:

Coordinador: José Cos Terrer (josee.cos@carm.es)

E-mail revista: revista.imida@carm.es

Para incluirse en la lista de distribución de la revista y recibirla automáticamente enviar un correo vacío (sin asunto ni texto) a la dirección anterior.



## DE LA ESTACIÓN SERICICOLA AL IMIDA

**Eulogio Molina Navarro**

Gerente del IMIDA

**E**n esta reseña se recogen notas sobre el Centro de La Alberca, desde su creación, como Estación Sericícola, a finales del siglo XIX hasta su actual configuración como Instituto Murciano de Investigaciones Agrarias y Alimentarias.



### **La Estación Sericícola**

La Estación Sericícola de Murcia fue creada por Real Decreto de 3 de marzo de 1892. En las actuales instalaciones de La Alberca esta ubicada desde el año 1913. Por Real Decreto de 20 de junio de 1924 elevo la categoría de la entidad a Estación Superior de Sericultura e Industrias Zoogenias, quedando adscrita al Instituto Nacional de Investigaciones y Experiencia Agronómicas y Forestales.

En la Ley de Presupuestos de 1932 se le cambia la denominación por la de Estación Sericícola y Pimentonera y en Ley de Presupuestos de 1933, pasa a denominarse Estación Sericícola, Estación Pimentonera y Subestación Naranjera y en la Ley de Presupuestos de 1935 quedan suprimidas tanto la Estación Pimentonera como la Subestación Naranjera, pasando a denominarse como Centro Estación de Sericultura y de Industrias Rurales.

El 9 de marzo de 1940, con motivo de la reorganización del entonces Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas, se crea el Centro de la Cuenca del Segura integrado por la Estación de Horticultura y Fruticultura y la Subestación Naranjera, sustituyendo la anterior Estación de Sericultura e Industrias Rurales.

Por Decreto de 19 de marzo de 1941 el Instituto de Fomento de la Producción de Fibras Textiles, encomienda las funciones propias de la sericultura a la Estación de Horticultura y Fruticultura.



Fue por Decreto de 19 de agosto de 1967 cuando desaparece el entonces Instituto de Fomento de la Producción de Fibras Textiles, quedando asignadas a la Estación de Horticultura y Fruticultura de Murcia las funciones del Servicio de Sericicultura.

### **Centro Regional de Investigación y Desarrollo Agrario 07. (CRIDA)**

En 1970, al crearse el Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas, el Centro de la Cuenca del Segura. Estación de Horticultura y Fruticultura con la denominación División de Murcia se integra en el Centro Regional de Investigación y Desarrollo Agrario de Levante (CRIDA 07).

Cuando en 1971, por Decreto-Ley de 28 de octubre se crea el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA), con motivo de una profunda reestructuración del Ministerio de Agricultura, y el nuevo Instituto asume las funciones y tareas del Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas, el Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias y el Patronato de Biología Animal. El Centro de la Cuenca del Segura Estación de Horticultura y Fruticultura, integrado en el suprimido Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas, se incorpora al INIA con la categoría de Unidad y la denominación División Murcia del CRIDA 07.

En el año 1974 la Estación Sericícola forma parte de la División de Murcia del Centro Regional de Investigaciones Agrarias de Levante (CRIDA 07).

La Antigua Estación de La Alberca se configura con una nueva estructura en la que existen dos Departamentos, Hortofruticultura y Producción Animal, y la Unidad de Sericicultura.

La Ley Orgánica 4/1982, de 9 de junio, del Estatuto de Autonomía para la Región de Murcia, reformada por la Ley Orgánica 1/1998, de 15 de junio, establece en su artículo 10 uno punto 15 que “Corresponde a la Comunidad Autónoma la competencia exclusiva en materia de fomento de la cultura y de la investigación científica y técnica en coordinación con el Estado, especialmente en materias de interés para la Región de Murcia” y en dos “En el ejercicio de estas competencias corresponderá a la Región la potestad reglamentaria y la función ejecutiva, que ejercerá respetando, en todo caso, lo dispuesto en la Constitución”.

### **El Centro de Investigación y Desarrollo Agroalimentario. (CIDA)**

En el Real Decreto 3422/1983, de 28 de diciembre se establece el traspaso de funciones y servicios del Estado a la Región de Murcia en materia de investigación. En las funciones que han de concurrir la Administración del Estado y la Comunidad Autónoma se prevé la creación de un órgano colegiado que de forma coordinada determinará directrices generales de investigación, criterios de asignación de fondos, conocimiento de acuerdos y convenios, prestación de apoyo y servicios, ....

Por Orden ministerial de 8 de enero de 1987 del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación se crea la Comisión Coordinadora de Investigación Agraria como el órgano colegiado que se contempla en el Real Decreto de traspaso de funciones y servicios en materia de investigación agraria. Cada Comunidad Autónoma tiene un miembro en la Coordinadora y dispone de un voto. Para la adopción de acuerdos se requiere el voto favorable de la mayoría de dos tercios de los miembros presentes de dicha Comisión, excepto en el caso de asignación de fondos que los acuerdos se adoptarán por unanimidad.

### **El Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario. (IMIDA)**

El Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario, es organismo público de investigación, con la condición de organismo autónomo, dotado con personalidad jurídica, patrimonio propio y plena capacidad de obrar para el cumplimiento de sus fines y se rige por lo dispuesto en la Ley 8/2002, de 30 de octubre, BORM nº 272 de 23 de noviembre de 2002 y el Decreto 13/2006, de 17 de marzo, por el que se aprueban sus Estatutos. Los fines del Instituto son impulsar la investigación y el desarrollo tecnológico en los sectores agrario, forestal y alimentario, el pesquero, el marisqueo, la acuicultura marina, la algaicultura y cualquier otra forma de cultivo industrial, teniendo como objetivo el desarrollo de programa regional de investigaciones agrarias y alimentarias de la Consejería de Agricultura y Agua.

El Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario, con sede y ubicación en La Alberca (Murcia), es el órgano ejecutor de la política de investigación, innovación, transferencia tecnológica y desarrollo agrario y alimentario de la Consejería de Agricultura y Agua.

La estructura y organización del Instituto está contemplada en sus Estatutos, adecuándose a la Ley 7/2004, de 28 de diciembre, de Organización y Régimen Jurídico de la administración pública de la comunidad Autónoma de la Región de Murcia, siendo la siguiente:

Como órganos directivos están el Consejo del Instituto, el Director y el Gerente.

Como órganos de asesoramiento la Junta Asesora y la Comisión Científica.

Para el desarrollo de su actividad científica se organiza funcional y operativamente en seis Departamentos de Investigación que ejercen las funciones de planificación, coordinación, dirección y control de los dieciséis equipos de investigación adscritos a ellos. Los 16 equipos de investigación son los ejecutores de las acciones y actuaciones en materia de investigación y desarrollo de tecnología agraria y alimentaria, incluida la acuicultura marina.



La Oficina de Transferencia de Resultados de la Investigación, creada por el Decreto 14/2006, de 17 de marzo, por el que se establece la estructura orgánica de Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario, ejerce la planificación y coordinación de las acciones y métodos adecuados que permitan la puesta a disposición de los sectores productivos de los resultados de la investigación del Instituto. Igualmente ejerce la planificación y coordinación de la red regional de experimentación, el Sistema de Información Agraria y la Red de Fincas Experimentales Cooperativas. ■

## *Proyectos I+D a fondo*

**Alimentación de pequeños rumiantes con subproductos de plantas aromáticas como fuente de antioxidantes endógenos. Mejoras en la producción y calidad de carne y leche.**

**Entidad financiadora :** INIA RTA04-077-C2

**Equipo investigador**

María José Jordán Bueso  
José Antonio Sotomayor Sánchez  
Arturo Lafuente Coutiño  
Cristina Martínez Conesa  
Inmaculada Moñino Frutos  
Vanessa Lax Vivancos  
Maria Pilar de Haro González

**Personal auxiliar**

Maria Quílez Simón  
José Antonio Candell Quijada  
Ana María Gamaza Beltrán



---

**E**l uso de los subproductos de la extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas medicinales (PAM) –romero, tomillo y salvia-, ricos en componentes polifenólicos, en alimentación de oveja Segureña y cabra Murciano-Granadina, supone importantes beneficios socioeconómicos (nuevas posibilidades de cultivo en secano), medioambientales (disminuye la recolección descontrolada de plantas silvestres en el monte), bienestar animal (acción beneficiosa de antioxidantes en la fisiología celular), y una mejora económica de los sectores agrícolas más desfavorecidos como consecuencia de la cada vez más pronunciada desertización del Sureste Español.

Estos hechos se avalan tras la consecución de los principales objetivos del presente proyecto, entre los que se incluye:

- Estudios de la transmisión de componentes bioactivos a carne y leche de rumiantes suplementas en su dieta con PAM.
- Obtención de alimentos con alto valor añadido, ricos en componentes endógenos que permitan mantener y mejorar la calidad tecnológica y microbiológica de los mismos.

## Resultados

Los ensayos de alimentación de cabras y ovejas con subproductos de PAM son anuales coincidiendo el uso de cada una de estas plantas con el ciclo reproductivo de los animales. Una parte de la dieta de los animales ha sido sustituida por hojas destiladas de romero (*Rosmarinus officinalis*) durante el año 2005, y con tomillo rojo (*Thymus zygis* subsp. *gracilis*) durante el 2006. Con estas hojas, mezcladas a partes iguales con grano de cebada, se ha elaborado un pienso granulado del que, previamente, se había comprobado su aceptación por los animales mediante ensayos previos con ganado caprino.

### **CABRAS MURCIANO-GRANADINAS.**

Las cabras murciano-granadinas (productoras de leche) se distribuyeron en 3 lotes homogéneos atendiendo a su producción, quedando agrupados en un lote Control, un segundo y tercer lote que consumen el 10% y el 20% de su ración en hojas de romero o tomillo destiladas.





En los controles lecheros realizados no se han detectado diferencias estadísticamente significativas para la producción de leche ( $P > 0,05$ ), por lo que se concluye que la incorporación de estos subproductos no modifica los rendimientos productivos en estos animales.

**Tabla 1.** *Incidencia de la incorporación de hoja destilada de romero en la alimentación de la cabra Murciano-Granadina sobre la producción lechera.*

	Producción L/cabra-día		
	Inicial	Gestación	Lactación
<b>Control</b>	1,30 ± 0,412	1,30 ± 0,436	1,40 ± 0,702
<b>10%</b>	1,29 ± 0,454	1,44 ± 0,471	1,53 ± 0,462
<b>20%</b>	1,28 ± 0,393	1,36 ± 0,449	1,56 ± 0,623

En la segunda anualidad de este proyecto se incluyeron en los grupos de ensayo mayor número de cabras, siendo algunas de ellas primerizas. Esto justifica la disminución detectada en el rendimiento lechero con respecto al año anterior, tal y como se especifica en la tabla 2.

**Tabla 2.** *Incidencia de la incorporación de hoja destilada de tomillo en la alimentación de la cabra Murciano-Granadina sobre la producción lechera.*

	Producción L/cabra-día		
	Inicial	Gestación	Lactación
<b>Control</b>	0,83 ± 0,211	0,76 ± 0,258	1,13 ± 0,665
<b>10%</b>	0,84 ± 0,252	0,87 ± 0,326	1,50 ± 0,735
<b>20%</b>	0,83 ± 0,321	0,75 ± 0,347	1,49 ± 0,717

### Transmisión de componentes polifenólicos a las secreciones lácteas.

Los resultados obtenidos en la Tabla 3 muestran la presencia de componentes con carácter antioxidante procedentes de la incorporación de subproductos de romero y de tomillo a la dieta animal; fundamentalmente los polifenoles con mayor actividad antioxidante -rosmarínico, carnósico y carnosol-, característicos de la familia de las labiadas.

**Tabla 3.** *Presencia de componentes polifenólicos en leche de cabra.*

Componentes	Control	10%	20%
Ac. gálico	+	+	+
Ac. caféico	+	+	+
Ac. ferúlico	+	+	+
Ac. p-coumárico	+	+	+
Naringina	+	+	+
Hesperidina	+	+	+
Ác. rosmarínico	-	++	++
Luteolina	++	+	+
Apigenina	+	+	+
Genkwanina	+	+	+
Carnosol	-	++	++
Ác. carnósico	-	++	++

(-) No detectado; (+) Concentraciones iguales en lotes ensayados; (++) Incremento significativo ( $P < 0,05$ ) de concentración entre lotes.

### GANADO OVINO.

A las ovejas Segureñas (productoras de carne) se les realizó el primer control de su Estado de Carnes o Condición Corporal (C.C.) para distribuir las en lotes homogéneos. Este primer control puso de manifiesto que las ovejas partían de una C.C. de 2,75 puntos en la escala de Russel.



La incorporación de las PAM a la dieta de estos rumiantes se realizó desde el inicio de la gestación hasta el destete de los corderos. Durante este tiempo las mediciones de la C.C. de los animales no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,05$ ) entre los valores medios de los tres lotes estudiados.

La ganancia de peso semanal de los corderos destetados, a los que también se les ofrece en la dieta subproductos de PAM, tampoco mostró diferencias estadísticamente significativas ( $P>0,05$ ) entre los valores medios de los pesos obtenidos (Tabla 4).

**Tabla 4.** *Ganancia de peso (kg/día) de los corderos segureños.*

Control	10%	20%
0,20 ± 0,06	0,21 ± 0,09	0,21 ± 0,08

**Transmisión de componentes polifenólicos a la carne de cordero.** Tras el sacrificio de los corderos, al peso de  $25 \pm 1$  kg, se analizaron muestras de carne procedentes de la paletilla y la panceta.

El análisis cromatográfico de los extractos metanólicos procedentes de las muestras seleccionadas ofrece resultados similares a los expresados en la fracción caseínica de la leche. Se detecta una mayor presencia de los polifenoles rosmarínico, carnosol y carnósico en los lotes complementados con el 10 y 20% de PAM.

La presencia de estos polifenoles y su acción antioxidante queda de manifiesto tras comprobar la mayor capacidad antirradicalaria detectada en los extractos metanólicos de las carnes procedentes de los lotes 10 y 20%. Estos efectos se traducen en un aumento de la vida comercial útil de la carne en fresco.



**Tabla 5.** Extracto metanólico ( $\mu\text{L}$ ) de carne necesario para reducir en un 50% la actividad radicalaria del DPPH

Lotes	Paletilla	Panceta	Media
Control	324	302	313
10%	249	241	245
20%	200	225	217

**Biodisponibilidad.** Para el estudio del metabolismo ruminal de polifenoles, administrados en la dieta enriquecida con PAM en cabra Murciano-Granadina y oveja Segureña, se han analizado cuali y cuantitativamente los más abundantes en sangre y aquellos que son excretados por heces y orina; observándose en el plasma un incremento significativo estadísticamente ( $P < 0,05$ ) entre las concentraciones de los componentes más característicos de estas plantas, entre los lotes alimentados con el 10 y 20% con respecto al control. ■

**Tabla 6.** Incremento en la composición polifenólica de plasma de cabrito cuyas madres han sido alimentadas con romero.

Componentes	Control	10%	20%
Ac. gálico	+	+	+
Ac. caféico	+	+	+
Ac. ferúlico	+	+	+
Ac. p-coumárico	+	+	+
Naringina	+	+	+
Hesperidina	+	+	+
Ác. rosmarínico	-	++	++
Luteolina	+	+	+
Apigenina	+	+	+
Genkwanina	+	+	+
Carnosol	-	++	++
Ác. carnósico	-	++	++

(-) No detectado; (+) Concentraciones iguales en lotes ensayados;  
 (++) Incremento significativo ( $P < 0,05$ ) de concentración entre lotes.

## *Proyectos I+D a fondo*

**Obtención de un mapa genético, físico y funcional y detección de genes para estrés biótico y abiótico en la vid.**

**Entidad financiadora:** INIA. RTA 03-001-C2-2.

**Equipo investigador**

Adrián Martínez Cutillas.

José Ignacio Fernández Fernández.

Proyecto Coordinado realizado en colaboración con Enrique Ritter, J. Ignacio Ruiz de Galarreta, Pablo Glez Goikoetxea de NEIKER (Álava).

---

**E**l objetivo general es establecer, aplicar y evaluar nuevas herramientas de biología molecular a la vid para obtener un mapa genético, físico y funcional y detectar marcadores o genes específicos de caracteres importantes relacionados con el estrés biótico y abiótico, productividad y calidad del vino.

Para este fin, el proyecto se apoya en la obtención de un mapa integrado que contiene diferentes tipos de marcadores moleculares y QTLs que se alineará con otros mapas existentes en esta especie. Los marcadores y genes identificados y sus variantes alélicas se podrán utilizar para la selección asistida por marcadores (SAM) en los programas de mejora o selección en vid así como para la transformación genética, en su caso.



Actualmente la vid ocupa en España aproximadamente 1.150.000 ha, situándose a la cabeza en superficie entre todos los países vitícolas. La vid se encuentra distribuida por toda la geografía española, siendo un cultivo con marcada incidencia económica y social, tanto por el número de empleos directos como indirectos, en el ámbito agrícola y en el enológico.

Aunque existe cierta biodiversidad en las vides a nivel nacional, la viticultura actual utiliza un reducido número de clones de diferentes variedades para el cultivo. Estos clones se seleccionaron con cierto esfuerzo por su respuesta fenotípica, pero no se utilizaron generalmente herramientas moleculares para determinar con mayor precisión, el valor genotípico en ambientes agroclimáticos variables de las cepas individuales.

La mejora genética moderna integra métodos clásicos y moleculares para obtener variedades con características mejoradas. En particular, la selección asistida por marcadores (SAM) está adquiriendo cada vez más importancia en diferentes especies. El desarrollo de marcadores moleculares apropiados requiere la disponibilidad de un mapa genético funcional y físico, lo cual se pretende aportar con este proyecto.

### **Material vegetal para el análisis**

Se utilizó la progenie F1 procedente del cruzamiento controlado entre los parentales Monastrell x Cabernet Sauvignon. El tamaño de la progenie fue inicialmente de 112 genotipos, que se establecieron en 1998 en campo (Finca experimental “ El Chaparral”, Murcia). La edad actual es de 7 años y todos los genotipos producen frutos. Para el análisis molecular se utilizaron 75 genotipos. El IMIDA proporcionó estaquillas de los parentales y de cada individuo de la progenie. Estas fueron enraizadas y plantadas en tiestos en un invernadero de NEIKER con el fin de disponer continuamente de material vegetal para el análisis molecular y los ensayos.

## 1) Marcadores moleculares

Dos tipos de marcadores se han utilizado para la construcción del mapa genético: marcadores SSR y AFLP. Se han ensayado un total de 94 combinaciones de cebadores (PCs) para AFLP y 21 SSR. Los 94 AFLP PCs generaron un total de 516 bandas segregantes (promedio de 5,5 bandas/PC). El número de bandas por PC varía entre 1 y 15 fragmentos. Los 21 SSRs generaron 62 bandas alélicas adicionales (entre 1 ó 2 loci por SSR).

Se obtuvieron 19 grupos de ligamiento (LG) para cada parental (Monastrell y Cabernet), que corresponden al número de cromosomas del genoma haploide de la vid. El mapa del parental P1 (Monastrell) contiene un total de 229 marcadores (171 marcadores individuales), cada uno de los grupos contiene entre 5 y 14 marcadores (promedio de 9 marcadores por LG) y su longitud varía entre 74 y 144 cM (centimorgans) con un promedio de 111 cM/LG. La longitud total del mapa es de 2100 cM. Por lo tanto la densidad media corresponde a un marcador por cada 9,2 cM.

El mapa del parental P2 (Cabernet S.) contiene un total de 208 marcadores (152 marcadores individuales), cada grupo de ligamiento contiene entre 5 y 12 marcadores con un promedio de 8 marcadores por LG. Los grupos de ligamiento varían entre 99 y 123 cM en longitud con un promedio de 99 cM/LG. La longitud total del mapa es de 1875 cM. La densidad media corresponde a un marcador por cada 9 cM.

Basado en marcadores comunes que sirven como puntos de anclaje, se construyó un mapa integrado de la progenie. Una parte del mapa integrado se puede ver en la figura 1. El mapa integrado contiene un total de 391 marcadores con entre 14 y 31 marcadores por LG (promedio de 20,6 marcadores por LG). Los grupos de ligamiento varían entre 103 y 143 cM con un promedio de 128 cM. La longitud total del mapa es de 2429 cM. La densidad media corresponde a un marcador por cada 6,2 cM.



Obviamente, el rendimiento (peso Kg/cepa) está relacionado significativamente con el número y peso de los racimos y el peso medio de las bayas en los tres años. Estos caracteres son generalmente independientes de los caracteres de composición de la uva, con la excepción de algunas correlaciones significativas que involucran al contenido en antocianos, fenoles y ácido tartárico.

La tabla 1 muestra la variación de los caracteres morfológicos en la progenie. Para cada carácter se computaron las frecuencias de cada nivel de variación. No se detectó ninguna relación clara entre frecuencias de los niveles de expresión, que podrían resultar de una segregación mendeliana (1:1; 3:1), es decir, el efecto de un gen mayor, aún combinando niveles de expresión, por lo cual se descartaron estos caracteres para el análisis QTL o mapeo directo.

**Tabla 1.** Variación de los caracteres morfológicos en la progenie.

	Forma racimo	n°	%
Monastrell X Cabernet S	alado doble	4	6,15
	cilíndrico	1	1,54
	cilíndrico alado	4	6,15
	cónico hombros	12	18,46
	corto cónico	38	58,46
	largo cónico	6	9,23
		65	100

	Compacidad	n°	%
Monastrell X Cabernet S	muy alta	2	3,125
	alta	14	21,875
	media	37	57,8125
	baja	11	17,1875
		64	100

	Color bayas	n°	%
Monastrell X Cabernet S	Blanca	10	14,71
	Rojas	4	5,88
	Negras	54	79,41
		68	100

En el carácter forma del racimo, predomina en la descendencia el tipo corto cónico proveniente de la Cabernet con un 58%, frente al 18 % cónico con hombros típico de los racimos de Monastrell, apareciendo también otras formas típicas de otras variedades de vid. Respecto a la compacidad, domina más el carácter de compacidad media de Monastrell con un 58% de presencia en los híbridos, frente al 22% que aparecen con compacidad alta, típica de Cabernet S.

En las bayas predomina el color negro, si bien es difícil de establecer la frontera entre las bayas rojas y las negras. En cuanto a la forma, analizada la descendencia los tres años, se concluye que toda la población de híbridos presenta bayas esféricas.

En la figura 2 se observa la variación de los datos fenológicos de los híbridos de Monastrell x Cabernet Sauvignon, La amplitud de las fechas de brotación entre el híbrido más precoz y el más tardío es de unos 20 días, produciéndose la brotación de todos, dentro del mes de abril, en las condiciones de clima y suelo del ensayo y apareciendo siempre en la descendencia individuos más precoces y más tardíos que los parentales. La floración se produce entre el 25 de mayo y el 6 de junio, el envero entre el 3 y el 16 de agosto y la maduración entre el 10 y el 23 de septiembre.



**Figura 2.** Variación fenológica de los híbridos de *Monastrell x Cabernet Sauvignon*.

En la tabla 2 aparecen los valores de los parámetros cromáticos y polifenólicos de 14 híbridos preseleccionados y sus parentales Monastrell y Cabernet Sauvignon. Los híbridos 38 y 80 presentan los mayores valores en compuestos fenólicos totales y un alto contenido en antocianos, siendo buenos el resto de valores, por lo que se profundizará en su estudio y seguimiento en distintas condiciones.

**Tabla 2.** *Parámetros cromáticos y polifenólicos de los híbridos seleccionados.*

REPETICION	CFT LAMADON	ANTOCIANOS LAMADON (g/Kg uva)	IMC (%)	MP (%)	ANTOCIANOS EXTRAIBLES (mg/Kg uva)	ANTOCIANOS TOTALES (mg/Kg uva)	POLIFENOLES EXTRAIBLES	° Brix
Mon*	6.87±0.02	1.00±0.00	50.44±0.76	48.88±2.30	693.9±47.09	1399.70±73.39	54.44±6.13	25.75±0.35
54	5.22±0.11	0.87±0.01	46.53±3.83	46.71±2.12	570.00±27.40	1067.53±41.20	42.77±0.56	24.6±0.02
56	7.75±0.04	1.40±0.02	5.53±1.68	50.71±2.57	849.13±45.66	898.53±36.30	68.91±0.12	26.9±0.01
57	7.42±0.05	0.94±0.06	18.75±0.66	61.13±0.71	634.87±11.78	781.43±17.45	65.33±0.21	25.6±0.02
61	6.29±0.10	0.79±0.01	32.55±5.18	53.18±1.58	651.95±18.19	969.27±52.26	55.71±0.78	24.3±0.00
62	7.88±0.24	0.95±0.03	14.60±4.58	61.38±0.74	602.89±15.19	706.70±22.26	62.43±0.49	27.6±0.01
65	6.75±0.07	1.00±0.06	6.53±1.88	41.13±1.94	915.07±38.75	940.13±33.19	62.17±1.17	27.2±0.0
80	10.17±0.03	1.29±0.05	14.04±2.69	64.72±0.53	827.20±22.82	962.47±18.18	93.77±1.35	29.1±0.01
90	7.86±0.22	0.93±0.04	10.35±2.97	57.06±0.32	616.95±4.44	688.63±21.60	57.47±0.52	25.8±0.01

Aunque el número de híbridos con bayas de color blanco ha sido muy inferior al de color negro, algunos poseen una buena conformación de racimos y bayas y buenos parámetros físico-químicos en la composición de sus bayas, por lo que también se seguirá evaluando su comportamiento. ■



## Artículo IMIDA

### Consideraciones sobre las infraestructuras actuales en los cultivos protegidos.

González, A., López-Marín, J, Gálvez, A.,

Guerrero, L., Rodríguez, C.M., García, J.

Departamento de Hortofruticultura

**P**osiblemente el invernadero del futuro deba concebirse como un sistema integrado de autogestión energética con la mayor independencia posible de las condiciones ambientales de la zona donde se ubica, y de servidumbres externas. Y todo ello presidido por un proceso de cultivo que no atente contra el medio ambiente, aproximándose lo máximo posible a la sostenibilidad, que sea capaz de generar un producto de la mayor calidad nutritiva y salúfera, y con una alta presencia de sus propiedades organolépticas. Entre otras actuaciones, el aprovechamiento de la versatilidad de los materiales plásticos de cubierta en los invernaderos, podría contribuir en gran medida a resolver algunas de las cuestiones que se plantean en el interior del recinto de cultivo.



En zonas de climatología mediterránea, típicas por sus inviernos suaves pero no exentos de bajas térmicas puntuales no muy previsibles por y la, casi, ausencia de las



*Control de las condiciones climáticas*

estaciones de otoño y primavera, con un corto invierno y una rápida transición hacia el verano, con unos periodos muy sostenidos de altas temperaturas, los cultivos hortícolas en invernadero están sujetos a la influencia de estos dos extremos climáticos durante su ciclo de cultivo. En ambos casos, el manejo y administración de la radiación recibida, seleccionando las infrarrojas próximas o de onda larga, podrían paliar su incidencia.

La forma del invernadero, tipos parral modificado, capilla, túnel, así como la extensión de las unidades, multicapillas o multituneles, también van a modificar las condiciones ambientales internas. La orientación del invernadero, en función de su eje mayor, o de la distribución de la cubierta, simétrica o asimétricamente, también van a tener un efecto determinante sobre el clima del invernadero, en ello influye fenómenos de reflexión de la radiación solar, que con ciertos tipos de estructuras facilita su incidencia y penetración. Lo que se implementaría con filmes de cubierta de gran transparencia, característica que habría que respaldar con un aumento de las propiedades mecánicas para hacerlos utilizables en cualquier tipo de estructura, y que pudiesen ser cosidos.

Junto al influjo ambiental, otro factor vital en estas áreas geográficas es el agua, elemento indispensable para el crecimiento de la planta. Tecnológicamente, los sistemas de riego localizado ponen a disposición del vegetal su dosis adecuada, se utiliza como agente vehiculante de su dotación nutritiva e, incluso, puede serlo también de algún producto fitosanitario para localizarlo mejor, ante el parásito; la utilización de sistemas de recirculación abierta o cerrada, unida a la hidroponía, hacen que estos caudales puedan tener un gran rendimiento. La cada vez mayor ausencia de fuentes naturales de este bien escaso, hace obligado que, junto a las limitadas aportaciones que llegan de otras cuencas hidrográficas y a las procedentes de los acuíferos locales, de baja calidad y elevado coste de surgencia, sea necesaria programar infraestructuras auxiliares como la utilización de plantas desaladoras de osmosis inversa; aunque habrá que considerar el alto coste energético que exige, el riesgo que supone depender de una tecnología no nacional, la prevención de su impacto medioambiental tanto en la producción de salmueras altamente contaminantes, con la posible fitotoxicidad que se puede producir de ciertos microelementos como el boro si el filtrado no es correcto, y su emisión de gases nocivos a la atmósfera, etc. Ante esta precariedad hídrica, también tendrían importancia la recogida de aguas de condensación de un macroinvernadero, así como la recogida de aguas pluviales que, cuando caen, en la Región, generalmente se distribuyen con carácter torrencial; un material de cubierta con un elevado coeficiente de resistencia al impacto por caída de dardo y sistemas de captación para la conducción de estos volúmenes hídricos serían muy útiles. Materiales de cubierta con un elevado coeficiente hidrófobo permitirían una mejor recogida del vapor de agua condensado, permitiendo

una mayor transparencia a la radiación solar, menos presencia de goteo que favoreciese la proliferación de enfermedades criptogámicas, etc.

La ausencia de lluvias en estas regiones y la elevada electricidad estática que circunda los materiales de cubierta provoca que el polvo se deposite en su superficie, constituyendo un obstáculo ante la radiación solar que pueda penetrar en el recinto de cultivo. También, el ahorro de agua, obliga a realizar las labores preparatorias del suelo con éste seco, desprendiéndose en su ejecución masas de polvo que se adhieren también por la parte interna de la cubierta del invernadero, causando el mismo perjuicio. Factores que influyen sobre la falta de transparencia del material, como la condensación o depósitos de polvo, se ven aunados por la utilización de sistemas pasivos de sombreo, como son los encalados; estos, que aunque han evolucionado desde la utilización del Blanco de España, hasta las pinturas de carácter biodegradable, ante la ausencia de lluvias y aun a pesar de su acreditación de vida útil limitada, afectan las propiedades ópticas del material de cubierta a lo largo del tiempo, ya que su textura micronizada puede ser susceptible de ocupar espacios estructurales. Ello provoca el crecimiento de plantas ahiladas, más débiles y propensas a irregularidades productivas e indefensas sanitariamente. Materiales de cubierta que redujesen estos efectos reducirán el impacto negativo de ciertas prácticas agrarias, potenciando el crecimiento de las plantas.

Las bajadas de temperatura invernales pueden ser paliadas con la ayuda de sistema de producción de energías alternativas, tanto eólica como solar, que permitan la complementariedad de una calefacción por agua caliente, que si estuviese dotada de una bomba de calor, potenciaría un mayor ahorro energético; y además podrían alimentar los sistemas de alimentación eléctrica, que habría que dimensionar, para sus-



tentar las necesidades de los automatismos y motores propios de este tipo de instalación. Ello, junto a materiales de cubierta opacos a la radiación infrarroja de onda larga en el periodo nocturno, crearían la atmósfera adecuada para el desarrollo de especies termófilas con elevadas o moderadas exigencias de calor, en épocas con huecos de mercado, demandadas por el consumidor y con un importante valor añadido.

La necesidad perentoria de prolongar los ciclos de cultivo durante los meses de verano para poder obtener un beneficio económico de la inversión realizada, provoca que las plantas tengan que evolucionar en ambientes de temperaturas muy altas que fuerzan la aparición de fisiopatías, afectan la fenología de la planta en sus fases de floración y fecundación, favorecen la expansión de plagas y enfermedades y afectan la calidad y el rendimiento del cultivo. Los sistemas de ventilación de las estructuras actuales, invernadero sencillo y multitúnel, en apertura máxima, lateral y cenital, no son suficientes para aliviar esos gradientes térmicos; otros sistemas complementarios pasivos, como los encalados y pantallas de sombreo, o activos, como la nebulización, cooling, etc., los palián, pero incluso no son suficientes en ciertos casos. La reducción de la radiación infrarroja cercana, responsable del incremento de las plantas más adecuado, una mejora sociológica al suavizar las condiciones de trabajo en los procesos de recolección y un ahorro en la inversión y mantenimiento de otros sistemas de sombreo.

En épocas de baja radiación y, sobre todo para cultivos ornamentales con exigencias lumínicas de fotoperiodo largo, o para hortalizas comestibles en fases fenológicas como la floración o el cuajado, es acuciante cubrir esas necesidades, y para ello, aprovechar al máximo la radiación natural es fundamental, de aquí que la transparencia de la cubierta sea de vital importancia. Y eso que, en caso de ser insuficiente la radiación fotosintéticamente activa (PAR), podría ser minorado ese defecto facultando a los filmes de cubierta de un efecto fluorescente que permitiese convertir la banda verde, no aprovechable de este tipo de radiación, en roja o azul, sí asimilable por la planta. Con ello, además, se reduciría la aportación de la iluminación artificial de apoyo, al formar plantas más aptas durante el día, con independencia de que esta ayuda auxiliar y, aprovechando las condiciones solares de la zona, pudiesen ser cogestionadas con sistemas alimentados por energías renovables o en su ausencia, ser aportados con energías convencionales en periodos de horas valle y con ciclos intermitentes.

Otro aspecto de gran importancia en un cultivo hortícola es el fitosanitario, y más aun cuando este se desarrolle como monocultivo en una gran extensión, con los problemas que acarrea de endemismos y otras patologías relacionadas con las enfermedades producidas por virus.

La situación actual de los productos hortícolas en el mercado presenta una máxima exigencia de salubridad, además de otros aditamentos que los hagan atractivos al consumidor; ello obliga a que consecuencias de la aplicación de la lucha química como es la detección de residuos, deban ser soslayadas utilizando otros medios de lucha. Estos se basan fundamentalmente en el control de plagas y enfermedades, ya desde la desinfección del suelo, por medio de métodos biológicos y físicos; los primeros empleando predadores naturales que las destruyen, y que constituyen una fauna auxiliar. El empleo de la entomofauna beneficiosa también es extensible a la actividad polinizadora, habiendo sustituido a los fitorreguladores de síntesis y, en ciertos casos, a las mismas abejas por otras especies multiplicadas industrialmente, como los abejorros.

Los métodos físicos de desinfección de suelo se basan en la utilización de la energía solar que penetra en el interior del invernadero como fuente generadora de calor, que a su vez es potenciada con la ayuda de otros implementos, como los acolchados de polietileno de 50  $\mu$  de espesor, como mínimo, con lo que se consiguen niveles térmicos letales para los parásitos que lo colonizan. El método puede ser mixto, biofumigación, combinando estos efectos con los procedentes de la fermentación de materia orgánica o materia verde procedentes de brassicas que son enterradas a nivel superficial con antelación a la colocación del acolchado. En caso de tener que desinfectar un invernadero vestido, situación que debería darse cada dos años consecutivos, la mayor transparencia del material de cubierta permitiría una mayor dotación de radiación, y así mismo deberá mantener sus propiedades mecánicas ante el incremento de la temperatura que se experimentaría al permanecer estanco y con las ventilaciones cerradas, o la posible repercusión de las emanaciones amoniacales procedentes de los procesos de fermentación. Transparencia que debería tenerse en cuenta con el filme de acolchado de igual manera, a la que debería acompañar una buena impermeabilidad a la pérdida de calor, para incrementar la inercia térmica del suelo.

Dentro de las necesidades ambientales que tienen los insectos se encuentra la exigencia de radiación ultra violeta (UV), que captan a través de sus fotorreceptores, para desempeñar correctamente funciones de relación, como las de la alimentación y reproducción.



La alteración de esta situación lumínica lleva consigo la perturbación de su conducta normal y una reducción de los índices poblacionales. La utilización de materiales de cubierta fotoselectivos que inhibían parte de la radiación UV han producido estos efectos en plagas como la mosca blanca o los trips, que además de plagas son agentes vectores de peligrosísimas virosis; aunque en el caso de que no fuera suficiente esa efectividad se podría complementar con el empleo de material vegetal tolerante a esas afecciones.

La supresión o reducción de los tratamientos fitosanitarios permitiría reciclar los restos vegetales de los cultivos como sustratos hortícolas, resolviendo de paso un gran problema de contaminación ambiental; aunque habría que resolver otra de las limitaciones que existen para este caso, que es la existencia de los tutores y demás elementos de sostén de las plantas que son de polipropileno, que deberían ser sustituidos por otros fabricados con materiales degradables, con lo que se podría procesar el conjunto.

La fabricación de materiales multicapa permite darles mayor resistencia al utilizar polietileno en sus capas externas, y potenciar su elasticidad y transparencia, empleando copolímeros de PVC. Al mismo tiempo ello permite una aditivación más compleja de compuestos que mejoren sus propiedades mecánicas y ópticas. Un problema que puede surgir en este aspecto es la migración anticipada de estos aditivos antes de cumplirse la vida útil del plástico, sobre todo cuando los sometemos a condiciones ambientales de carácter externo. También en el aspecto económico, más a nivel de pequeño agricultor, hay que tener en cuenta que el incremento del grosor del filme, hace disminuir la cantidad de superficie por kilo adquirido, por lo que dentro de estos materiales multicapa hay que tenerlo en cuenta con vistas a abastecer a este sector.

La existencia de un material plástico de cubierta de invernadero que reuniese la mayoría de los aspectos comentados tendría una gran repercusión en la mejora del comportamiento de las plantas cultivadas, de su producción cualitativa y de sus rendimientos. Al ser un sistema pasivo, la posible elevación de costes de fabricación podría ser perfectamente asumida ante las innumerables ventajas que conseguiría el agricultor. Y al mismo tiempo el impacto ambiental negativo causado por los residuos y prácticas de cultivo, se verían aminorados de manera importante, permitiendo su existencia y continuidad en zonas vulnerables y ecosistemas inestables y en peligro. ■

## Artículo IMIDA

### Embriogénesis somática y Transformación Genética de la vid.

Mercedes Dabauza Micó

Departamento de Viticultura (IMIDA)

[mercedes.dabauza@carm.es](mailto:mercedes.dabauza@carm.es)

**L**a vid (*Vitis vinifera* L.) es un cultivo de gran importancia económica. La mejora tradicional se basa en la selección clonal de variantes somáticos que aparecen en los campos de cultivo o bien, en la generación de nuevas variedades mediante cruzamientos entre variedades cultivadas o con especies silvestres de los géneros *Vitis* y *Muscadinia*. Sin embargo, aunque los cruzamientos son relativamente fáciles entre genotipos de *Vitis*, diversos inconvenientes genéticos hacen desalentador el empleo de esta técnica. Una alternativa de mejora es la Ingeniería Genética. La vid es una especie recalcitrante a la transformación genética debido a diversas causas como son, la baja capacidad de regeneración de plantas; la alta dependencia entre el genotipo, el tipo de explante y el medio de cultivo empleados; la interacción existente entre las diversas especies y variedades de *Vitis* y las distintas especies y cepas de *Agrobacterium* (bacteria empleada para la transformación genética en laboratorio); etc. Por ello, es necesario desarrollar protocolos de regeneración y de transformación genética específicos de variedad e incluso de clon para regenerar plantas transgénicas de vid eficientemente.



En los cinco últimos años, el grupo de Cultivo de Células y Tejidos Vegetales del IMIDA (del que han formado parte Antonio José López-Pérez, José Enrique Costerrer, Leonardo Velasco, Antonio Pérez-Vicente, Marcos López-Romero y María Pazos-Navarro), ha trabajado en la puesta a punto de protocolos de regeneración de plantas mediante embriogénesis somática de distintas variedades de uva de mesa como son Crimson Seedless, Sugraone (Superior Seedless), Italia, Red Globe, Don Mariano (Napoleón), Dominga y la variedad de vinificación Monastrell (López-Pérez 2005, 2006; López-Pérez y col., 2005, 2006; Pérez-Vicente y col., 2006) y, por primera vez en España, hemos desarrollado métodos de transformación genética de vid específicos para dos variedades de uva de mesa apirena: Sugraone y Crimson Seedlees (López-Pérez, 2006; López-Pérez y Dabauza, 2006; López-Pérez y col., 2007; López-Pérez y col. (enviado)).

Estos procedimientos de regeneración de plantas nos han permitido abordar distintos trabajos de investigación como son: la selección de nuevos clones (variantes somaclo-nales) de Monastrell (disponemos de una colección de 400 plantas cultivadas en campo, Pérez-Vicente y col., 2006) y la obtención de plantas libres de virus de la variedad Don Mariano (se dispone de 19 plantas libres de los serotipos 1, 2 y 3 del virus del enrollado (GLRaV), Dabauza y col., 2006). Por otro lado, el desarrollo de los métodos de transformación genética nos pueden permitir emplear las plantas como biofactorias para la obtención de compuestos con interés industrial, farmacéutico o medicinal, tanto endógenos de la planta, como la sobreproducción de resveratrol (sustancia con actividad antioxidante y anticancerígena) o exógenos como por ejemplo la producción de anticuerpos. Además, ahora que se dispone de la secuencia completa del genoma de la vid, la transformación genética de esta especie es una herramienta indispensable para realizar estudios de genómica funcional, es decir, poder conocer la función de cada uno de los genes de la vid.





## Material y Métodos

### Material Vegetal

Se emplearon anteras y ovarios inmaduros procedentes de inflorescencias de vid (*Vitis vinifera* L.) recolectadas en campo 15-20 días previo a la antesis. Las variedades empleadas fueron Sugraone, Crimson Seedless, Don Mariano (Napoleón) e Italia. Las inflorescencias se esterilizaron con una solución al 0,4% de cloro activo y adicionada con Tween 20 (0.1%) durante 10 minutos, seguido de tres lavados con agua destilada estéril.

### Embriogénesis somática y Regeneración de plantas

Las anteras se sembraron en medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) suplementando con diferentes concentraciones de 2,4-D (4, 7 y 10  $\mu\text{M}$ ) y BA (0.7; 1 y 1.3  $\mu\text{M}$ ). Los cultivos se mantuvieron en oscuridad continua a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y 50-60% de humedad relativa. Los callos desarrollados se subcultivaron a medio fresco cada 30 días durante aproximadamente cuatro meses.

Cuando los callos alcanzaron un tamaño igual o superior a 10-12 mm se subcultivaron a medio MS con los macronutrientes diluidos a la mitad, suplementado de sacarosa al 2% y sin reguladores del crecimiento (medio denominado  $\frac{1}{2}\text{MS}$ ). En esta etapa se estudió el efecto del carbón activo (CA, 0.25%) sobre el proceso de embriogénesis somática (medio denominado  $\frac{1}{2}\text{MSAC}$ , López-Pérez et al. 2005). Los cultivos se mantuvieron bajo las mismas condiciones de luz y temperatura descritas anteriormente.

Los embriones somáticos de 5 mm de longitud, se aislaron y cultivaron sobre medio  $\frac{1}{2}\text{MS}$  adicionado de 0.25% CA y aminoácidos (medio MG) y se evaluó el efecto de la adición de AIA (10  $\mu\text{M}$ ) y  $\text{GA}_3$  (1  $\mu\text{M}$ ) sobre la germinación de los embriones. Los cultivos se mantuvieron a una temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , 50-60% de humedad relativa y bajo fotoperíodo (16h luz/8h oscuridad) con una densidad de flujo de fotones fotosintéticos de  $90 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  suministrada por tubos Grolux (Sylvania). Los embriones germinados, con cotiledones y raíz desarrollados y de color verde se transfirieron a tu-

bos de ensayo con medio  $\frac{1}{2}$ MS para favorecer su crecimiento (López-Pérez et al. 2006).

Todos los medios de cultivo empleados, se solidificaron con 8 g/L de agar Noble (Difco) después de ajustar el pH a 5.8 con NaOH, y se esterilizaron en el autoclave a 121°C durante 15 minutos.

### Transformación genética de la vid

Se emplearon callos embriogénicos procedentes de anteras de las variedades Su-graone y Crimson Seedless, mantenidos en el medio 4/1.3 mediante subcultivos mensuales y dos cepas de *Agrobacterium tumefaciens*: C58(pMP90) y EHA105, portadoras del plásmido binario pBIN19-*sgfp* que contiene en su T-DNA los genes *nptII* y *sgfp* (green florescent protein).

El callo embriogénico se inoculó durante 10 minutos con una suspensión bacteriana de *Agrobacterium tumefaciens*. Se retiró el exceso de bacteria y se realizó un cocultivo de los callos durante 48 horas, en oscuridad a  $26\pm 1^\circ\text{C}$ . Posteriormente, se realizó un lavado durante 20 minutos con medio MS líquido adicionado con cefotaxima (900 mg/L) y el callo se transfirió a medio  $\frac{1}{2}$  MSAC con cefotaxima (300 mg/l). A los 10 días, los callos se transfirieron al mismo medio pero con kanamicina para la selección de las células transformadas. Los embriones seleccionados se cultivaron en medio de germinación y posteriormente en medio de desarrollo para la regeneración de plantas (López-Pérez, 2006).

La expresión del gen *sgfp* en las células transformadas se detectó mediante el uso de un estereomicroscopio de fluorescencia Leica MZ16F. Para estudiar diferencias en la capacidad de transformación del callo embriogénico entre las distintas cepas de *A. tumefaciens*, se tomaron datos de expresión transitoria del gen *sgfp* semanalmente. Transcurrido un mes, la expresión detectada se consideró como expresión estable. Los datos se expresan como el número de puntos GFP positivos por gramo de callo empleado.

La caracterización molecular se realizó mediante PCR para los genes *nptII* y *sgfp*, y mediante Southern blot de ADN genómico, empleando como sonda un fragmento del gen *sgfp* marcado con digoxigenina.

### Aclimatación de las Plantas

Las plantas desarrolladas se trasplantaron en macetas con una mezcla de sustrato (turba:perlita, 2:1) y se mantuvieron en una cámara de aclimatación bajo fotoperíodo (16/8h) a 26°-28°C, tapadas con frascos de cristal. Progresivamente se fue destapando la cubierta de cristal y posteriormente, fueron trasladadas al invernadero.

## Resultados

### Embriogénesis somática y Regeneración de plantas

En este proceso de regeneración, se ha comprobado la interacción existente entre la variedad, el medio de cultivo y el tipo de explanto empleado, lo que nos ha permitido diseñar protocolos de regeneración específicos para algunas variedades de vid.

En la Tabla 1 se puede observar el efecto del medio de cultivo en la inducción de callo a partir de anteras de cuatro variedades de vid. En general, se obtienen callos en

**Tabla 1.** Efecto del medio de cultivo en la inducción de callo (%) a partir de anteras de diferentes variedades de uva de mesa. Los datos seguidos de la misma letra no presentan diferencias significativas para  $P < 0,05$  según el test LSD de Fisher.

Medio 2,4-D/BA (µM)	Sugraone	Crimson Seedless	Italia	Don Mariano
4/0.7	38.7 ab	1.2 a	10.6 a	1.2 ab
4/1	42.5 ab	2.5 a	18.1 a	3.7 c
4/1.3	52.5 b	25.0 c	17.5 a	1.2 ab
7/0.7	40.6 ab	1.8 a	11.8 a	0.0 a
7/1	48.1 b	4.3 a	13.7 a	0.6 a
7/1.3	48.7 b	6.8 ab	10.6 a	1.2 ab
10/0.7	31.2 a	1.2 a	8.7 a	0.0 a
10/1	45.6 b	5.0 ab	13.1 a	0.6 a
10/1.3	51.8 b	11.8 b	13.1 a	3.1 bc

todos los medios de cultivo en las cuatro variedades, destacando un mayor porcentaje de callos de Sugraone y de Crimson Seedless en el medio 4/1.3. A partir de ovarios se obtienen resultados similares aunque los porcentajes son menores (datos no mostrados). La adición de carbón activo al medio de subcultivo de los callos (1/2MSAC) tiene un efecto beneficioso en el desarrollo de los embriones somáticos (Tabla 2), obteniéndose embriones a partir de callos de anteras de Sugraone, Crimson Seedless y Don Mariano y a partir de ovarios de Crimson Seedless, Italia y Don Mariano. El porcentaje de germinación de los embriones somáticos fue muy elevado (Tabla 3), obteniéndose hasta un 99% en Don Mariano. La adición de IAA y GA<sub>3</sub>, si bien no influye significativamente en la germinación de los embriones, sí favorece el posterior desarrollo de las plantas en el medio ½MS (Tabla 3) observándose un aumento significativo en el porcentaje de plantas de Crimson Seedless regeneradas (63.8% frente a 49.4% en medio sin estos reguladores del crecimiento). Las plantas regeneradas se aclimataron con éxito a condiciones de invernadero con un porcentaje comprendido entre un 95 % y un 99 % (Figura 1).



**Figura 1.** Distintas fases en la regeneración de plantas de vid. 1) callo proembriogénico procedente de anteras inmaduras, 2) callo embriogénico, 3) embrión germinado, 4) planta desarrollada y aclimatada en invernadero.

**Tabla 2.** Efecto del carbón activo (CA, 0.25 %) en la diferenciación de embriones somáticos (%).

Variedad	Tipo de Explanto	Número de callos cultivados	Callo embriogénico en ½ MS (%)	Callo embriogénico en ½ MSCA (%)
Sugraone	Anteras	223	5.8	99.5
Crimson S.		36	0.0	89.0
Italia		57	0.0	0.0
Don Mariano		19	0.0	15.8
Sugraone	Ovarios	30	0.0	0.0
Crimson S.		40	0.0	22.5
Italia		37	0.0	2.7
Don Mariano		27	0.0	18.5

**Tabla 3.** Efecto del AIA ( $10 \mu\text{M}$ ) y  $\text{GA}_3$  ( $1 \mu\text{M}$ ) en la germinación de los embriones somáticos y en la regeneración de plantas.

Variedad	Medio de germinación	% Germinación	% Regeneración de plantas en $\frac{1}{2}\text{MS}$
Crimson Seedless	MG, IAA+ $\text{GA}_3$	91.0a	63.8a
	MG	94.0a	49.4b
Sugraone	MG, IAA+ $\text{GA}_3$	92.0a	46.1a
	MG	96.1a	42.7a
Don Mariano	MG, IAA+ $\text{GA}_3$	98.5a	55.3a
	MG	99.2a	52.2a

Para cada variedad los porcentajes de germinación o de regeneración seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes para  $p < 0,05$  según el test LSD de Fisher.

Conclusión: Para la inducción de callo embriogénico en Crimson Seedless y Sugraone el mejor explanto son las anteras cultivadas en medio con  $4 \mu\text{M}$  de 2,4-D y  $1,3 \mu\text{M}$  de BA (medio 4/1.3). En Don Mariano tanto anteras como ovarios dan lugar a callo embriogénico en similar porcentaje en el medio 4/1.3. En Italia tan solo los ovarios fueron capaces de inducir callo embriogénico aunque no es posible identificar un medio de cultivo como el más idóneo ya que tanto 4/1.3 como 4/1 dieron buenos resultados.

### Transformación genética

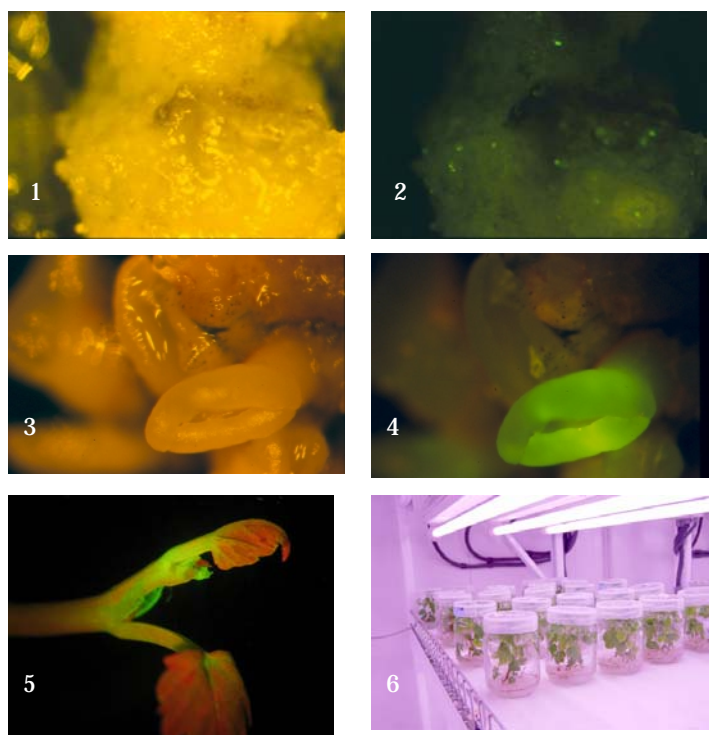
En la transformación genética de Sugraone y Crimson Seedless, se ha observado que las dos variedades difieren sustancialmente en algunos de los parámetros importantes que intervienen en la eficacia de transformación, selección y regeneración de plantas transgénicas como son la cepa de *Agrobacterium tumefaciens* empleada, la concentración de la bacteria para la infección del material vegetal, la concentración de antibiótico empleada para realizar la selección de las células transformadas o el método de cultivo de los callos tras la infección. Como resultado final de todos estos experimentos, se han desarrollado protocolos de transformación genética específicos para cada variedad.

La selección de los embriones se realizó en base a su resistencia a kanamicina y a la expresión fluorescente de la proteína GFP (Figura 2). En la cabina de flujo laminar

y observando con el estereomicroscopio de fluorescencia, se fueron separando los embriones que mostraban fluorescencia verde y se cultivaron siguiendo la ruta normal de regeneración desarrollada en nuestro laboratorio (López-Pérez et al., 2005; 2006).

La caracterización molecular, realizada en base a análisis PCR y Southern blot sobre DNA total, demostró la obtención de plantas transgénicas estables, con una eficacia de 25 plantas por gramo de callo embriogénico de Crimson Seedless y de 21 plantas por gramo de callo de Sugraone, en un periodo de 6-7 meses tras la inoculación con *Agrobacterium*.

**Figura 2.** Obtención de plantas transgénicas de vid. 1 y 2) expresión transitoria del gen *sgfp* en un fragmento de callo embriogénico de vid. 3 y 4) Embrión somático de vid que expresa el gen *sgfp* a los 30 días del cultivo. Izquierda: material vegetal iluminado con luz blanca, Derecha: iluminado con luz azul. 5) Planta transgénica expresando la proteína verde fluorescente GFP. 6) Plantas transgénicas de vid.



## Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el IMIDA (Proyecto PR06-002) y por la Consejería de Educación y Cultura de la Región de Murcia (BIO-AGR06/03-0006). Agradecemos también la excelente asistencia técnica a Juan Carreño, por su inestimable ayuda y colaboración en la elección de materiales vegetales, y a Miguel Ángel Saura, Pedro García, Santos Fernández y Adrián Palazón, por su excelente trabajo con todo el material de campo e invernadero.

## Referencias

- Dabauza M, García de Rosa B, López-Pérez AJ, Hita I, Padilla C, Padilla V. 2006. Obtención de plantas libres de virus de la variedad de uva de mesa Don Mariano mediante embriogénesis somática. Cuadernos de Fitopatología, 2006, 90:113-115.
- López Pérez AJ. 2005. Regeneración de plantas de la variedad de uva de mesa Crimson Seedless (*Vitis vinifera* L.) vía embriogénesis somática. Tesina de Licenciatura. Universidad de Murcia.
- López-Pérez AJ, Carreño J, Martínez-Cutillas A, Dabauza M. 2005. High embryogenic ability and plant regeneration of table grapevine (*Vitis vinifera* L.) induced by activated charcoal. *Vitis*, 44(2):79-85.
- López-Pérez AJ, Carreño J, Dabauza M. 2006. Somatic embryo germination and plant regeneration of three grapevine cvs: Effect of IAA, GA<sub>3</sub> and embryo morphology. *Vitis* 45 (3):141-143.
- López Pérez AJ. 2006. Desarrollo de protocolos de regeneración de plantas vía embriogénesis somática y de transformación de vid (*Vitis vinifera* L.). Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- López-Pérez AJ, Dabauza M. 2006. Transformation of embryogenic callus and transgenic plant regeneration in tablegrapevine Sagraone (*Vitis vinifera* L.): Effect of *Agrobacterium tumefaciens* Strain. 9<sup>th</sup> Int. Conf. on Grape Genetics and Breeding, July, Udine, Italy.
- López-Pérez AJ, Carreño J, Dabauza M. 2007. Transformation of embryogenic callus and transgenic plant regeneration in table grapevine Sagraone (*Vitis vinifera* L.): effect of *Agrobacterium tumefaciens* strain. *Acta Horticulturae*, (en prensa).
- López-Pérez AJ, Velasco L, Pazos-Navarro M, Dabauza M. Development of two cultivar-specific genetic transformation protocols for table grapevine Sagraone and Crimson Seedless (enviado).
- Pérez-Vicente A, López-Pérez AJ, Fernández S, Martínez-Cutillas A, Dabauza M. 2006. Regeneración de plantas de vid (*Vitis vinifera* L.) variedad Monastrell vía embriogénesis somática. *Viticultura y Enología Profesional*, 105: 5-6. ■



## Artículo IMIDA

### **Evolución anual de evapotranspiración de referencia (Penman-Monteith-FAO) y variables agrometeorológicas utilizadas para su estimación.**

Manuel Caro Ayala  
SIAM—IMIDA  
manuel.caro@carm.es

---

**D**ebido a las condiciones de extrema aridez de la Región de Murcia se desarrolló, a finales de la década de los 70, un programa para la creación de una red agrometeorológica, cuyo principal objetivo es la estimación de la evapotranspiración de referencia ( $ET_0$ ) y necesidades de riego.



Esta red estaba basada en principio en estaciones manuales, instaladas en parcelas con los cultivos característicos de cada zona regable. La red se amplió y optimizó durante los 80 y 90, reemplazándose las manuales por estaciones automáticas. En la actualidad la componen 49 estaciones; treinta son estaciones propias, dieciocho del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPYA) y una de la Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT).

Los datos registrados por las estaciones se publican diariamente en la página Web del Sistema de Información Agrario Murciano (SIAM) del IMIDA ([www.imida.es](http://www.imida.es)).

En este trabajo se exponen los valores medios regionales de la evapotranspiración de referencia ( $ET_0$ ) calculada por el método de Penman – Monteith, además de variables agrometeorológicas empleadas para su estimación. Para ello se han empleado los datos procedentes de la Red de Estaciones Agrometeorológicas del SIAM-IMIDA .



Esta Red esta compuesta por treinta estaciones propias aunque se han utilizado veintiocho ya que en dos de ellas la serie histórica es muy corta, dieciocho del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPYA) que se instalaron en 1.999, integradas en la Red SIAR y una de la Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT). Debido a la fecha de puesta en funcionamiento de cada una, la serie histórica de las estaciones no es la misma para todas ellas, de forma que se ha empleado la siguiente serie para cada una de ellas: las del IMIDA abarca los años de 1.996 hasta el 2.006, las del MAPYA de 1.999 a 2.006 y la de la UPCT solo el año 2.006, debido a que aunque esta estación lleva funcionando más tiempo, el SIAM-IMIDA se hizo cargo de su mantenimiento y explotación en esta fecha.



En la metodología para la obtención de los valores anuales de cada estación, se parte de consultas a la tabla de la base de datos con registros diarios, a fin de obtener para cada estación medias, máximas, mínimas y acumulados de las siguientes variables meteorológicas:

VARIABLE	LEYENDA	UNIDADES
AÑO	Año	
NDIAS	Número de días con registros de 24 horas	
VVMED	Velocidad media del viento, medida a 2 m.	m/seg
TMED	Temperatura media l	° C
TM	Temperatura máxima de las medias	° C
Tm	Temperatura mínima de las medias	° C
TMabs	Temperatura máxima absoluta	° C
Tmabs	Temperatura mínima absoluta	° C
HRMED	Humedad relativa media	%
HRM	Humedad relativa máxima de las medias	%
HRm	Humedad relativa mínima de las medias	%
RMED	Radiación global incidente	W/m <sup>2</sup>
HSOL	Número de horas de sol acumuladas	
PREC	Precipitación acumulada	Mm
NDP	Número de días con precipitación	
ET <sub>0</sub>	Evapotranspiración de referencia acumulada, estimada por el método de Penman-Monteith-FAO.	Mm

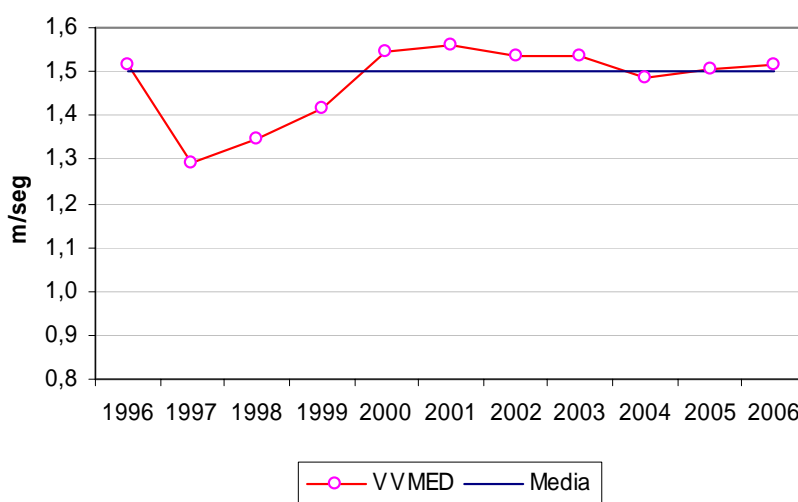
En la siguiente tabla se relaciona la ubicación de las 47 estaciones agrometeorológicas utilizadas:

Código	Nombre	X <sub>UTM</sub>	Y <sub>UTM</sub>	Latitud	Longitud	Cota
AL31	Totana	631134	4177380	1° 30' 47.29"	37° 43' 56.99"	234
AL41	Alhama Valle	639493	4184116	1° 25' 00.39"	37° 47' 32.05"	167
AL51	Librilla	646202	4196165	1° 20' 18.01"	37° 53' 57.91"	164
AL62	Cañada Gallego	644794	4159467	1° 21' 42.92"	37° 34' 08.71"	110
CA12	La Palma – UPCT	680785	4173450	0° 57' 03.09"	37° 41' 19.92"	30
CA21	Corvera	665320	4188975	1° 07' 22.49"	37° 49' 53.04"	225
CA42	Balsapintada	664924	4179770	1° 07' 45.14"	37° 44' 53.89"	136
CA52	La Aljorra	670233	4171939	1° 04' 14.18"	37° 40' 37.25"	84
CA72	Roche	683796	4166811	0° 55' 08.73"	37° 37' 41.35"	63
CA91	El Campillo	655462	4174084	1° 14' 16.96"	37° 41' 56.52"	174
CI22	Hoya del Campo	648038	4233496	1° 18' 35.57"	38° 14' 07.43"	281
CI32	Ulea	652671	4228482	1° 15' 28.53"	38° 11' 28.96"	236
CI42	La Caprichosa	631394	4239282	1° 29' 55.99"	38° 17' 24.82"	253
CI52	Calasparra	614311	4234953	1° 41' 41.89"	38° 15' 12.59"	274
CR12	Barranda	588796	4211407	1° 58' 48.67"	38° 02' 38.24"	866
CR32	El Chaparral	615553	4219246	1° 40' 59.06"	38° 06' 39.35"	432
CR42	Moratalla	604030	4228626	1° 48' 37.50"	38° 11' 54.35"	454
CR52	Cehegin	607082	4218310	1° 46' 48.18"	38° 06' 16.26"	506
JU12	C <sup>a</sup> del Judio	637803	4251007	1° 25' 24.11"	38° 23' 41.56"	394
JU42	Yecla Norte	657918	4280624	1° 11' 08.73"	38° 39' 31.90"	657
JU52	Yecla – Pinillos	664558	4270147	1° 06' 44.57"	38° 33' 45.57"	565
JU61	Jumilla	646291	4259462	1° 19' 27.73"	38° 28' 11.04"	486
JU71	Las Encebras	653858	4251259	1° 14' 21.58"	38° 23' 40.01"	405
JU81	Aljuzarejo	647254	4244028	1° 18' 59.92"	38° 19' 49.60"	337
LO11	Lorca	621083	4162736	1° 37' 46.14"	37° 36' 06.23"	323
LO21	Pozohiguera	615537	4151777	1° 41' 38.07"	37° 30' 13.86"	356
LO31	Águilas	624681	4142445	1° 35' 31.94"	37° 25' 06.96"	30
LO41	La Paca	604096	4190668	1° 48' 59.90"	37° 51' 23.42"	693
LO51	Águilas	621756	4150090	1° 37' 26.29"	37° 29' 16.45"	329
LO61	Puerto Lumbreras	613917	4160518	1° 42' 40.81"	37° 35' 03.32"	310
ML12	Yechar	638577	4214494	1° 25' 46.20"	38° 03' 57.14"	263
ML21	Mula	634664	4211679	1° 28' 00.49"	38° 02' 27.76"	274
MO12	Torres de Cotillas	648990	4208022	1° 18' 09.23"	38° 00' 25.31"	157
MO22	Campotejar	656033	4221601	1° 13' 15.61"	38° 07' 36.99"	144
MO31	Llano de Molina	655664	4214906	1° 13' 58.05"	38° 04' 13.36"	80
MO41	Abanilla	670577	4226616	1° 03' 13.48"	38° 10' 09.87"	138
MO51	Fortuna	661952	4225502	1° 09' 09.43"	38° 09' 39.79"	196
MO61	Ojos	646290	4221343	1° 19' 55.72"	38° 07' 35.45"	161
MU21	Beniel - Los Álamos	675661	4211733	0° 59' 58.72"	38° 02' 04.33"	27
MU31	Sangonera La Verde	652374	4196142	1° 16' 05.75"	37° 53' 53.59"	138
MU52	Cabezo de la Plata	674491	4204412	1° 00' 52.83"	37° 58' 07.55"	149
MU62	La Alberca	664029	4201022	1° 08' 04.99"	37° 56' 24.24"	53
TP22	San Javier	692087	4185147	0° 49' 10.48"	37° 47' 30.10"	6
TP42	Torre Blanca	685178	4182992	0° 53' 54.62"	37° 46' 25.89"	31
TP73	San Cayetano	682549	4188774	0° 55' 36.75"	37° 49' 35.52"	95
TP81	Martínez del Puerto	672353	4186382	1° 02' 35.97"	37° 48' 24.31"	126
TP91	Torre Pacheco	677479	4179933	0° 59' 12.02"	37° 44' 51.81"	53

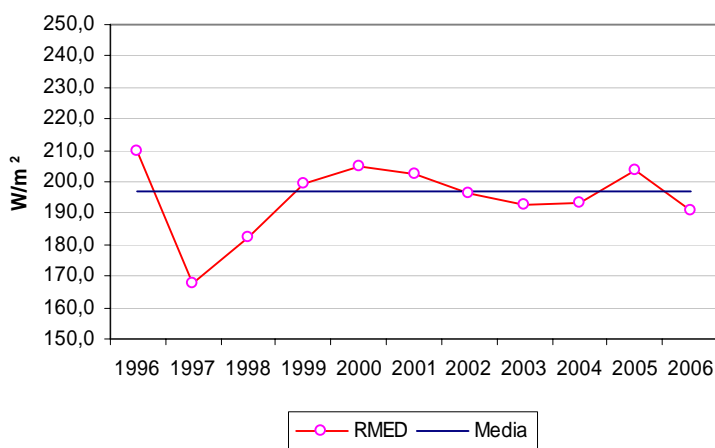
Con el fin de determinar la existencia de diferencias significativas entre los años, se realiza para cada variable agrometeorológica un análisis de la varianza por el método LSD con un nivel de confianza del 95 %. A partir de los datos anuales para cada estación y variable se han elaborado gráficas y mapas de isolíneas, así como una tabla resumen con los valores medios anuales obtenidos para cada variable y que se expone a continuación:

AÑO	VVMED	TMED	TM	Tm	HRMED	RMED	HSOL	PREC	NDP	ET <sub>0</sub>
1996	1,52	16,75	25,21	9,64	62,92	209,95	3365	286,56	63	1243,8
1997	1,29	17,28	24,86	9,95	65,34	167,41	3388	339,76	67	1199,0
1998	1,35	17,50	26,20	8,68	63,95	182,26	3435	183,40	36	1216,4
1999	1,42	17,06	26,73	9,18	62,75	199,21	3267	213,73	49	1222,1
2000	1,55	17,10	25,71	7,32	63,24	204,92	3363	237,95	48	1237,4
2001	1,56	17,52	26,24	8,50	62,61	202,64	3296	289,44	66	1267,1
2002	1,54	17,17	24,97	9,56	63,95	196,54	3385	250,07	62	1194,3
2003	1,54	17,37	27,19	9,36	64,22	192,43	3314	300,74	67	1230,4
2004	1,48	16,96	26,60	10,03	65,05	193,05	3279	315,62	63	1185,0
2005	1,51	16,46	26,30	7,48	62,89	203,68	3338	176,69	57	1222,4
2006	1,51	17,42	26,78	8,00	65,13	191,11	3300	291,78	69	1237,6

La media regional de la velocidad del viento medio (VVMED) varía de 1,29 a 1,56 m/seg, valores que corresponden a los años 1.997 y 2.001, siendo la media del periodo de 1,48 m/seg. En el siguiente gráfico se aprecia como los años 1.997, 1.998 y 1.999 se alejan ligeramente de la media. En el ANOVA no se aprecian diferencias significativas entre los años al aplicar el test de rango múltiple.

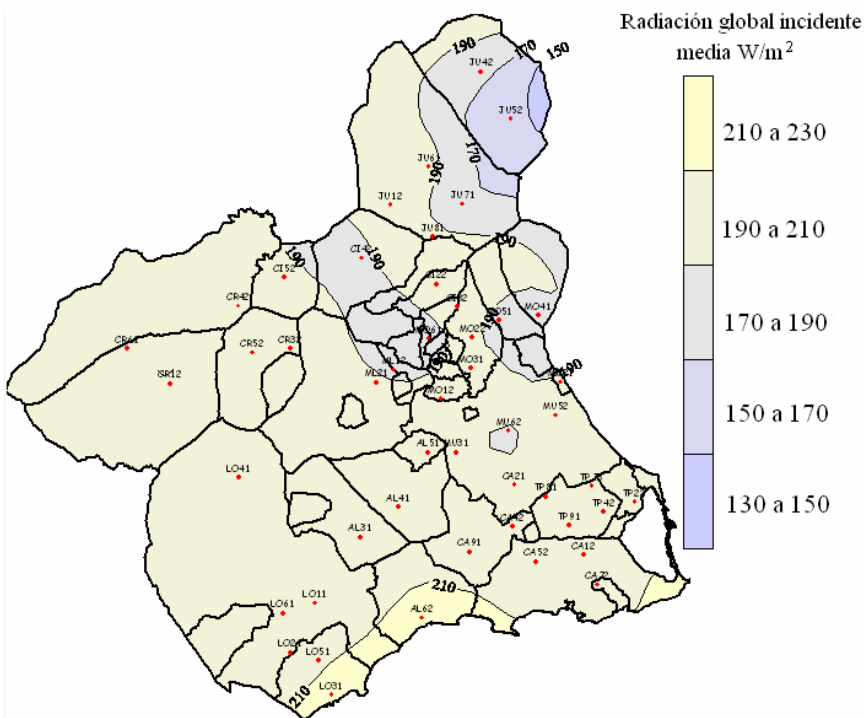


La radiación global incidente media (RMED) alcanza el valor mínimo el año 1.997 en que se registraron 167,41 W/m<sup>2</sup> y el valor máximo en el año 1.996 con 209,95 W/m<sup>2</sup>, correspondientes ambos a la estación de Cañada Gallego, siendo el valor medio interanual de 197,24 W/m<sup>2</sup>.



En los resultados del análisis estadístico se observan dos grupos homogéneos comprendidos por los años 2.001 y 2.005 con valores de 202,643 y 203,681 W/m<sup>2</sup> y los años 2.006 con 191,115 W/m<sup>2</sup>, 2.003 con 192,431 W/m<sup>2</sup> y 2.004 con 193,052 W/m<sup>2</sup>. Ambos grupos presentan diferencias significativas entre ellos y respecto al resto de los años.

En el mapa de isóneas de radiación global se aprecia como la mayor parte de la superficie tiene una media de 190 a 210 W/m<sup>2</sup>, superada solo por la zona que abarca Águilas y el litoral del Golfo de Mazarrón con valores por encima de los 210 W/m<sup>2</sup> y la zona donde se registran valores más bajos es la de la parte no-roeste del Altiplano con valores inferiores a los 150 W/m<sup>2</sup>.

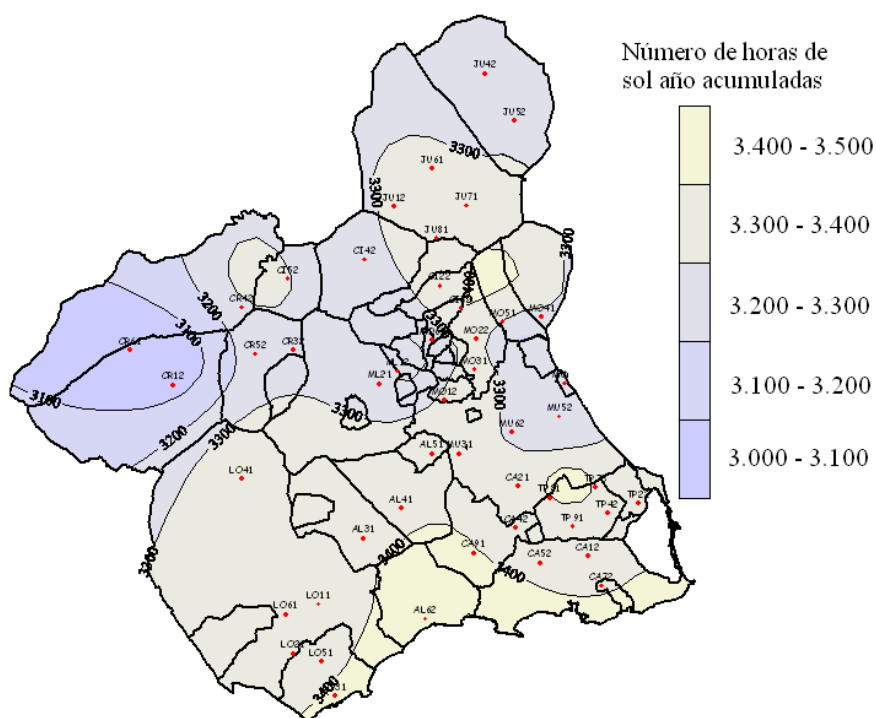


La zona donde se registran valores más bajos es la de la parte no-roeste del Altiplano con valores inferiores a los 150 W/m<sup>2</sup>.

Respecto a las horas de sol, el año con menor número de horas de sol (HSOL) es 1.999 con 3.267, siendo el valor máximo el alcanzado en el año 1.998 con 3.435, año que coincide con el de mayor radiación global incidente. El número de horas de sol medio anual es de 3.339.

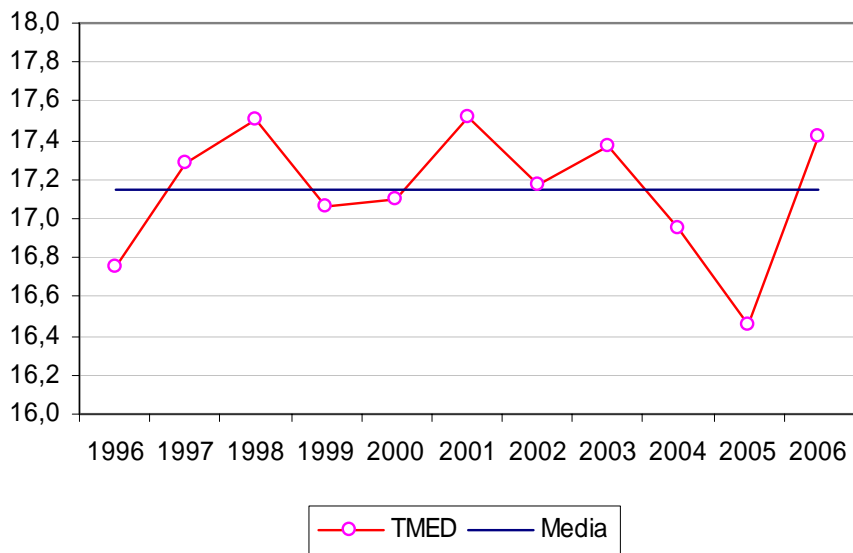
Del resultado del análisis estadístico del número de horas de sol, se desprende que solo hay diferencias significativas entre los años 1.999 v 1.998.

En el mapa de isólinas de número de horas de sol se observan tres zonas en las que se registran el máximo, con valores comprendidos entre 3.400 a 3.500 horas de sol anuales, y que corresponden a la zona que se extiende desde Águilas hasta Cabo de Palos en el litoral, de Los Martínez del Puerto a Pozo Aledo en el Campo de Cartagena y la última en la zona que se extiende entre Ulea, La Hoya del Campo y Fortuna.



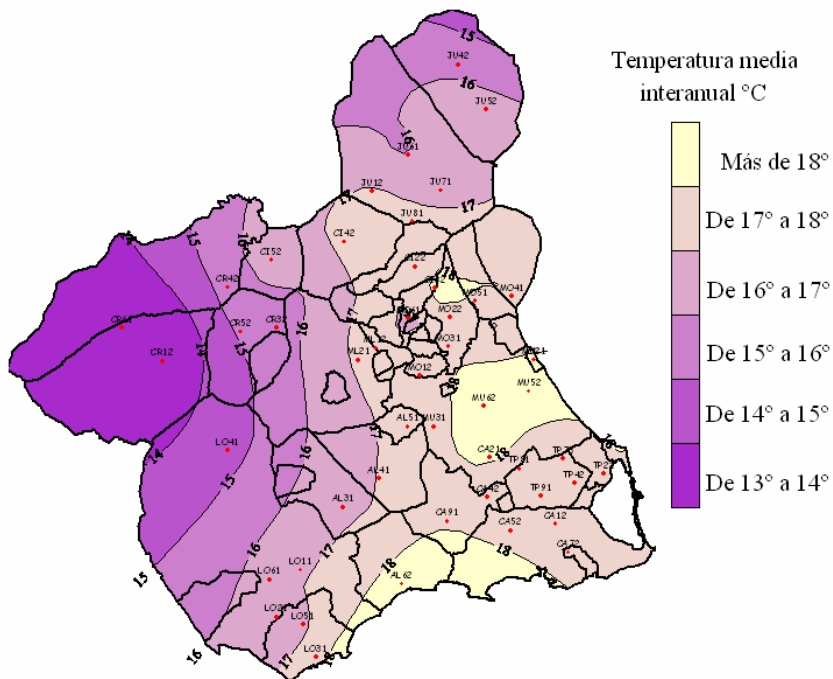
En el resultado del análisis estadístico solo hay dos años que formen un grupo homogéneo formado por los años 2.006 y 2.003 con 291,777 y 300,743 mm, valores ambos superiores a la media interanual.

La temperatura media (TMED) oscila entre los 16,46 °C del año 2.005 y los 17,52 °C del año 2.001, siendo la media regional interanual de 17,14 °C. El ANOVA muestra



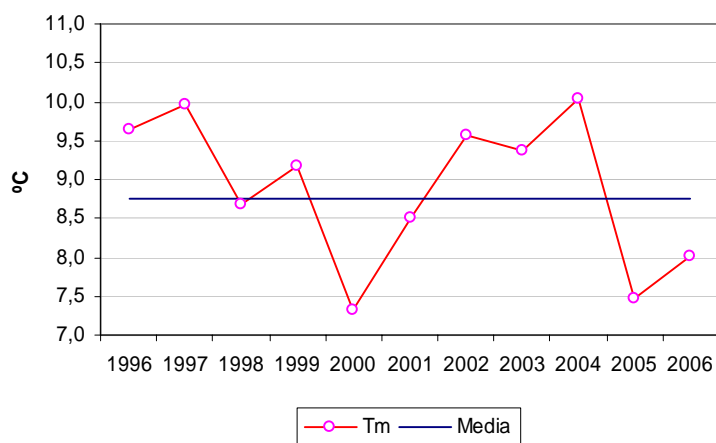
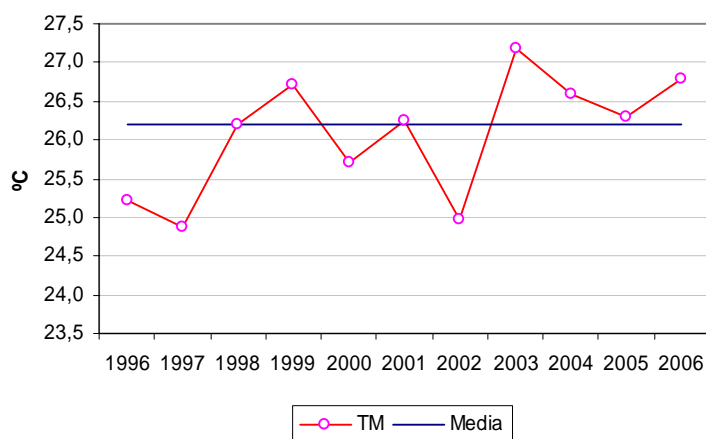
diferencias significativas entre el año 2.005, en el que se obtiene la media más baja, y el resto de los años, excepto 1.996 cuya temperatura media es de 16,8 °C muy próxima a la del 2.005. Por otra parte el año 2.001 presenta diferencias significativas respecto a tres de los años con valores por debajo de la media 1.996, 2.004 y 2.005.

En el mapa de isotermas se representan los valores medios interanuales obtenidos para cada estación. Se observan tres zonas con valores superiores a 18° C, la primera en la zona del litoral del Golfo de Mazarrón, la segunda que se extiende desde Corvera a La Alberca hacia el Cabezo de la Plata en las estribaciones de la Sierra de Carrascoy y la última de menor extensión en la Vega Media del Segura, extendiéndose por la Hoya del Campo, Campotejar, Abanilla y Fortuna. En cuanto a la zona con las medias más bajas se encuentra en la Comarca del Noroeste abarcando los Municipios de Caravaca y Moratalla, con temperaturas entre 13° y 14° C de media interanual.



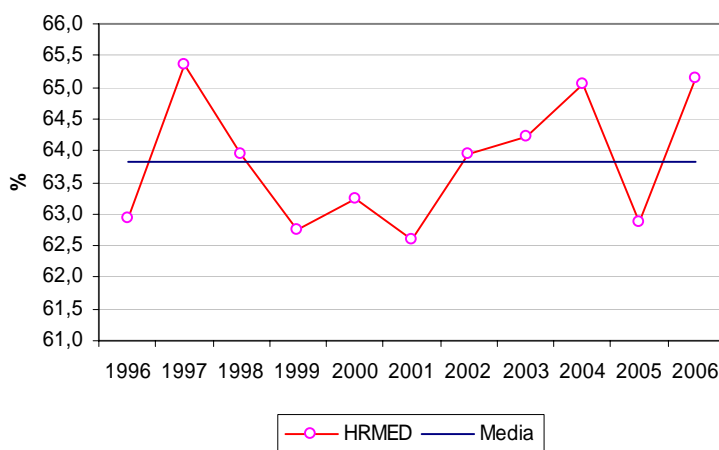


La temperatura máxima (TM) alcanza el valor más elevado el año 2.003 con 27,19 °C y el más bajo en 1.997 con 24,86 °C, siendo la media de 26,19 °C. El resultado del análisis estadístico indica que solo hay un grupo homogéneo compuesto por los años 1.997 y 2.002.

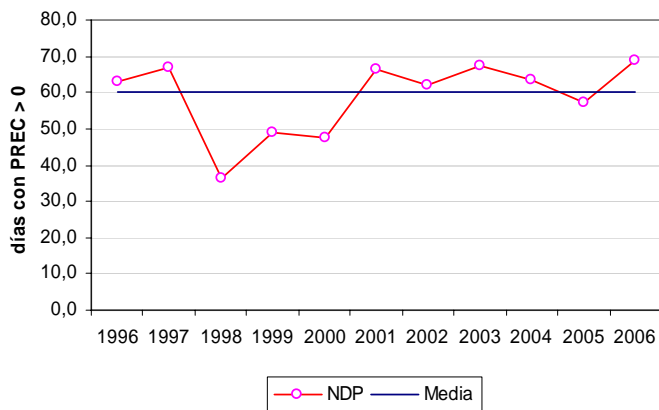
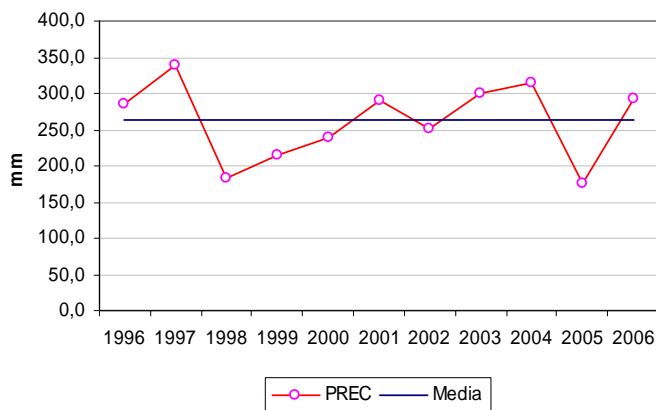


La temperatura mínima (Tm) está comprendida entre los 7,32 °C del año 2.000 y los 10,03 °C del año 2.004, siendo la media interanual de 8,76 °C. En el ANOVA se observan dos grupos homogéneos compuestos el primero por los años 2.000 y 2.005 y el segundo por los años 2.003, 2.002 y 1.996.

La humedad relativa media del período se encuentra en el intervalo de 62,61 % del año 2.001 y el 65,34 % del año 1.997. En los resultados del análisis estadístico se aprecian diferencias significativas entre los años 2.001 v 2.004, 2.001 v 2.006, 2.004 v 2.005 y 2.005 v 2.006.

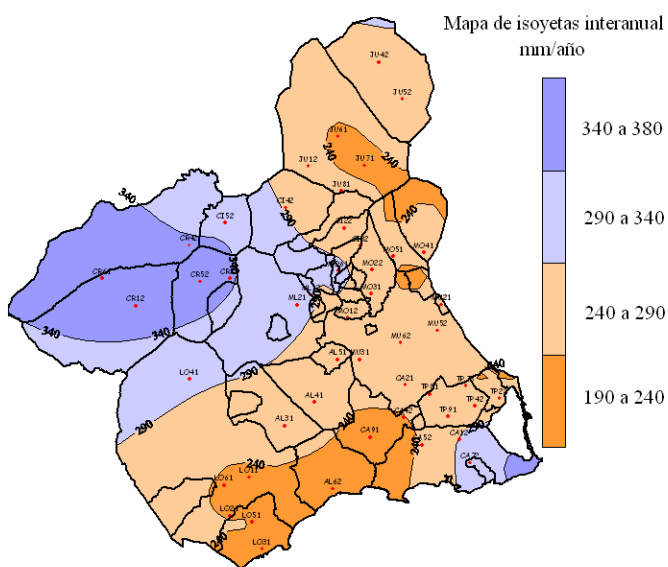


La precipitación anual media (PREC) oscila de 176,7 mm en el año 2.005, en que la media alcanza el valor más bajo de la serie, hasta 339,7 mm de media más elevada en el año 1.997, siendo el valor medio interanual de 262,369 mm. En el resultado del análisis estadístico solo hay dos años que formen un grupo homogéneo formado por los años 2.006 y 2.003 con 291,777 y 300,743 mm, valores ambos superiores a la media interanual.

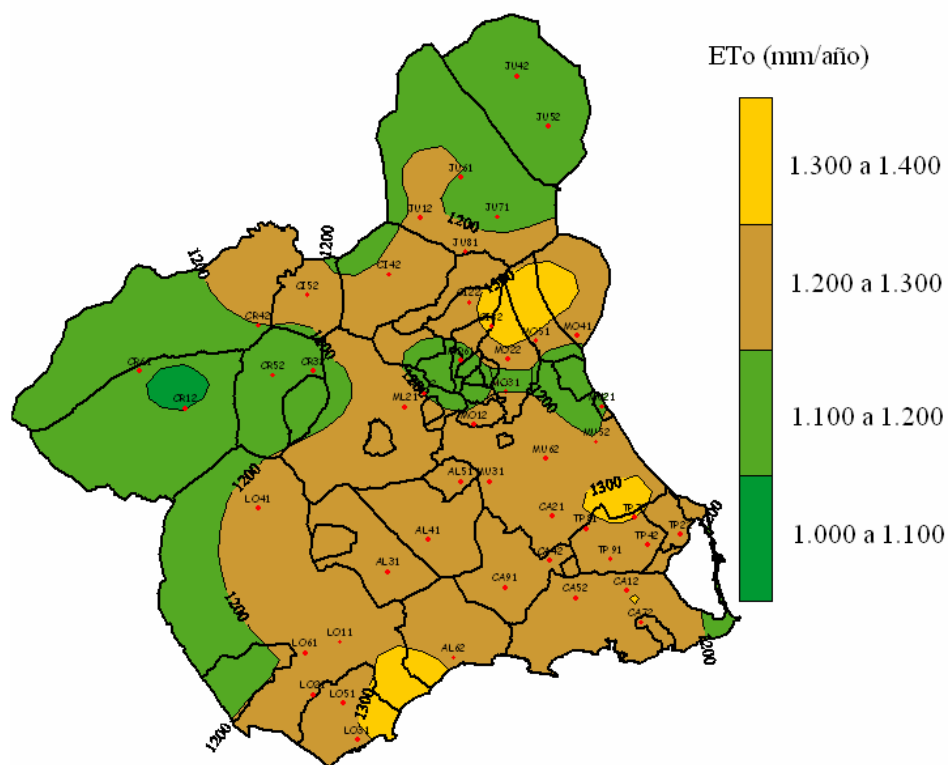
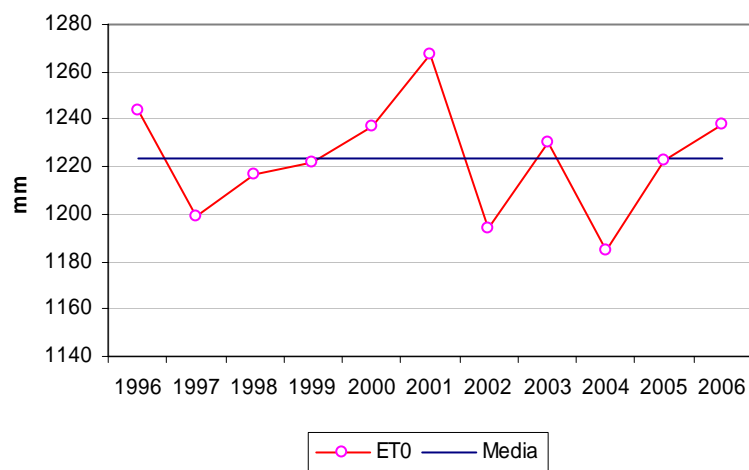


El año con menor número de días con precipitación registrada (NDP) corresponde a 1.998 con 36,2 días y el de mayor al año 2.006 con 69. La media de número de días con precipitación al año de la serie es de 60,1921. En el resultado del análisis estadístico hay solo un grupo homogéneo integrado por los años 2.001, 1.997 y 2.003 con un número de días de precipitación que oscila entre 66,3 y 67,5.

En el mapa de isoyetas se distinguen tres zonas con precipitación entre 190 a 240 mm/año que abarcan desde Águilas a Cabo Tiñoso en el litoral, desde La Cañada de la Leña, al Norte de Abanilla, Cañada del Trigo, Torre del Rico, Las Encebras hasta Jumilla. Y la última entre los términos municipales de Murcia, Santomera y Fortuna. Las dos zonas con una mayor precipitación anual se encuentran la Comarca del Noroeste y en la zona comprendida entre Los Camachos y Cabo de Palos con valores entre 340 a 380 mm.



Los valores medios de  $ET_0$  anual oscilan entre los 1185,0 mm del año 2.004 y los 1267,08 mm del 2.001, siendo la media interanual es de 1.223,59 mm. Del tratamiento estadístico se desprende que existen dos grupos homogéneos formados el primero por los años 1.997, 1.998 y 1.999 y el segundo por los años 2.000 y 2.006. Hay diferencias significativas en el resultado del análisis estadístico entre el año 2.001 en el que se alcanza la media más elevada y los años 1.997, 1.998, 1.999, 2.002, 2.004 y 2.005 y además entre el año 2.000 y los años 2.002 y 2.004.



En el mapa de isolíneas de evapotranspiración se observa como la zona de menor demanda evaporativa, con valores que oscilan entre los 1.000 a 1.200 mm/año, se extiende por cuatro zonas: desde la comarca del Noroeste hasta Puerto Lumbreras por el Oeste y el Altiplano, extendiéndose por el Norte del municipio de Cieza, en la Vega Media del Segura y en Cabo de Palos.

Las zonas con mayor demanda evaporativa anual, con valores medios interanuales entre 1.300 a 1.400 se encuentran entre Águilas y Mazarrón, en el Campo de Cartagena en Los Infiernos y en desde Abaran hasta Abanilla. En el resto de la Región se registran valores medios comprendidos entre los 1.200 y 1.300 mm/año. ■

# Artículo IMIDA

## La colección de limonero del IMIDA.

Ignacio Porras Castillo y Olaya Pérez Tornero

Equipo de Citricultura. IMIDA.

ignacio.porras@carm.es

**D**esde hace más de veinticinco años se está realizando en el IMIDA una selección en campo de clones de limonero donde se buscan variedades con mejores características agronómicas, productivas y de calidad de fruto que las tradicionalmente cultivadas. Los principales criterios que se han seguido para la selección tanto en lo que respecta al fruto como al árbol son los siguientes:

### **Caracteres generales del fruto:**

Forma.

Color externo.

Dimensiones reducidas del mamelón y del cuello.

Reducido espesor de la corteza.

Solidez del eje central o columela.

Alto rendimiento en zumo.

Acidez adecuada.

Bajo número de semillas.



### **Caracteres generales del árbol:**

Estado sanitario.

Precocidad.

Bajo porcentaje de flores estaminadas.

Poco reflorescente.

Adecuado periodo de recolección.

Buena afinidad con el patrón.

El trabajo de selección se efectuó en gran medida antes de la década de los noventa y como resultado de la selección se incluyeron más de 20 clones de limonero en el Banco de Germoplasma del IVIA (Moncada, Valencia), además de más de ocho clones importados de distintos países y de interés para la citricultura.

Todos los clones de posible interés, son sometidos a estudios previos antes de ser saneados por la técnica de ápices caulinares *in vitro*. El número de cultivares actualmente en el Banco de Germoplasma del IVIA, es de 38. En los últimos años también han entrado en el Banco de germoplasma selecciones realizadas por particulares y variedades protegidas. Las variedades actualmente presentes en el Banco de Germoplasma del IVIA se muestran en la Tabla 1.

Han desaparecido por su poco interés, porque no mejoran las características de los presentes o son muy similares a lo que están actualmente, Fino 74-L-04 (F-47), Fino 74-L-05(F-48); Fino 80-L-10 (F-77); Fino Largo Guadalobón (F-94) y Verna AF-1 (V-70).

Las variedades de mayor interés, una vez saneadas por el IVIA, son plantadas en las parcelas experimentales del IMIDA tanto en La Alberca (Murcia) como en Torreblanca (Campo de Cartagena), que están situadas en zonas típicas del cultivo del limonero (Figura 1), y son estudiadas. La última variedad en la que había mucho interés por su precocidad, ausencia de espinas y ausencia de semillas ha sido 'Bétera'. Los estudios llevados a cabo muestran que tiene graves problemas de producción por lo que no es recomendable para un cultivo comercial.

Actualmente se han incorporado 'Callosa', 'Garpo', 'Finolate' y 'Pisana' (Fig. 1). Las tres primeras son tipo Fino y la última de tipo Verna. Se espera incorporar en un futuro próximo tres variedades protegidas: 'Líder', 'Milenium' y 'Añejo'.



**Figura 1.** Últimas variedades de limonero plantadas en Torreblanca (Campo de Cartagena).



**Tabla 1.** Variedades presentes en el banco de germoplasma del IVIA (Fuente: página Web del IVIA).

<b>SELECCIÓN</b>	<b>CÓDIGO</b>
<b>AÑEJO (PR)</b> -----	IVIA - 418
<b>PISANA (PR)</b> -----	IVIA - 551
<b>GARPO</b> -----	IVIA - 552
<b>FINOLATE</b> -----	IVIA - 553
<b>BETERA (PR)</b> -----	IVIA - 162
<b>CALLOSA</b> -----	IVIA - 539
<b>CHAPARRO (R)</b> -----	IVIA - 370
<b>COMUN</b> -----	IVIA - 122
<b>DULCE</b> -----	IVIA - 443
<b>EUREKA ALLEN</b> -----	IVIA - 88
<b>EUREKA FROST</b> -----	IVIA - 297
<b>EUREKA FROST 4n</b> -----	IVIA - 495
<b>FEMINELLO APIRENO GRECO</b> -----	IVIA - 398
<b>FEMINELLO CAMPISI</b> -----	IVIA - 389
<b>FINO 74-L-03</b> -----	IVIA - 46
<b>FINO 74-L-08</b> -----	IVIA - 49
<b>FINO LARGO ABEJERA</b> -----	IVIA - 95
<b>GIGANTE</b> -----	IVIA - 60
<b>LAPHITOS</b> -----	IVIA - 285
<b>LIDER (PR)</b> -----	IVIA - 533
<b>LISBON DR STRONG</b> -----	IVIA - 212
<b>LISBON FROST</b> -----	IVIA - 219
<b>LISBON LIMONEIRA</b> -----	IVIA - 214
<b>LUNARIO</b> -----	IVIA - 120
<b>LUNARIO AMBROJO</b> -----	IVIA - 121
<b>MESSARA</b> -----	IVIA - 287
<b>MESSINA</b> -----	IVIA - 191
<b>MILENIUM (PR)</b> -----	IVIA - 534
<b>MONACHELLO</b> -----	IVIA - 192
<b>SANTA TERESA</b> -----	IVIA - 220
<b>VAKALOU</b> -----	IVIA - 286
<b>VARIEGADO</b> -----	IVIA - 146
<b>VERNA 74-L-02</b> -----	IVIA - 50
<b>VERNA 74-L-01</b> -----	IVIA - 51
<b>VERNA 77-L-09</b> -----	IVIA - 62
<b>VERNA FERRE</b> -----	IVIA - 96
<b>VERNA LIBRILLA</b> -----	IVIA - 251
<b>VILLAFRANCA</b> -----	IVIA - 69

La tendencia actual de demanda del mercado es la de variedades sin semillas, lo que implica problemas productivos, ya que en las variedades sin semillas los frutos tienden a ser pequeños.

Una característica del limonero es que tiende a ser reflorescentes. La tipificación de frutos que se da en la Huerta de Murcia, según la fecha de floración, se expresa en la Tabla 2 y es común para todas las variedades de limonero.

**Tabla 2:** *Floraciones del limonero: Clase de fruto y época de recolección.*

<b>Clase de fruto</b>	<b>Época de floración</b>
<b>Flor de enero</b>	Floración del mes de enero
<b>Cosecha</b>	Floración de febrero hasta la 1ª quincena de mayo
<b>Cosecha asegundada</b>	Floración de 2ª quincena de mayo
<b>Segundo</b>	Floración de junio
<b>Segundo arrodrejado</b>	Floración de julio
<b>Rodrejo asegundado</b>	Floración de agosto
<b>Rodrejo</b>	Floración de septiembre a diciembre

En la selecciones llevada a cabo de las nuevas variedades se ha buscado que sean poco reflorescentes, pero además de esto, con la ayuda de las técnicas de cultivo se procura que todos los frutos ó al menos la gran mayoría sean de cosecha que son los que el mercado demanda, aunque en algunos años los rodrejos puedan alcanzar buenas cotizaciones.

Años atrás, se practicaba con frecuencia el “forzado” para conseguir rodrejos en las plantaciones de Verna, en las que a finales de junio se observaba que habían desprendido en el cuaje la mayor parte de la cosecha.

De entre las selecciones de ‘Verna’ obtenidas, las que presentan mayor interés son: ‘Verna 51’ y ‘Verna 62’, habiéndose descartado ‘Verna 50’ y 70 por ser menos productiva y por dar frutos de peor calidad.

‘Verna 51’ y ‘Verna 62’ son dos selecciones muy similares. Presentan con relación al ‘Verna 50’ frutos mejor conformados, con el collar y mamelón más reducido y el tamaño del limón es de menor calibre, siendo más productivas.

Dentro de las selecciones de ‘Fino’ destacan ‘Fino 49’ y ‘Fino 95’, siendo este algo más precoz pero peor conformado. Actualmente ‘Fino 49’ es el que mayor difusión ha tenido por su gran productividad y excelente calidad de fruto y buena conservación siempre que las condiciones de cultivo sean simplemente buenas. Hay que tener en cuenta que ‘Fino 49’, si se utiliza *Citrus macrophylla* como patrón, se puede recolectar desde mediados de septiembre a finales de diciembre en perfectas condiciones, pero no cuando se pretende recolectar por motivos comerciales a partir de febrero; en esta época el patrón adecuado es naranjo amargo pero no se le puede pedir precocidad y kilos.

Aunque la selección, en la mejora genética del material vegetal, constituye uno de las principales vías para obtener un mejor resultado económico en las explotaciones de cualquier especie, es necesario continuar con los trabajos de mejora para introducir nuevas variedades que se adapten mejor a nuestra actual situación. Actualmente, en el IMIDA, se están llevando a cabo cruzamientos en campo (Figura 2) con el fin de obtener variedades de fructificación tardía y muy tardía. Por otra parte, y debido al interés comercial que se tiene por obtener variedades sin semillas, se van a realizar cruzamientos con clones tetraploides de interés.

**Figura 2.** *Cruzamientos en campo de variedades de limonero. Polinización y cuajado del fruto.*



Debido a que los programas de mejora genética clásica en cultivos leñosos son lentos se está intentando agilizar éste programa incorporando a las clásicas nuevas técnicas como el cultivo de embriones inmaduros, multiplicación *in vitro*, búsqueda de marcadores moleculares, obtención de mutantes, conservación del germoplasma, etc.

En nuestro departamento se ha puesto a punto una metodología para el rescate de embriones inmaduros de limonero procedentes de los distintos cruzamientos en campo (Figura 3), y ya se dispone de distintas variedades y patrones de limonero en cultivo *in vitro* (Figura 4). También se va a abordar la mutagénesis por métodos físicos y químicos para la obtención de variedades mejoradas o de clones tetraploides. ■



**Figura 3.** *Rescate y cultivo in vitro de embriones inmaduros de limonero.*



**Figura 4.** *Explantos de limonero cultivados in vitro.*

## OFERTA TECNOLÓGICA DEL IMIDA

### DEPARTAMENTO DE HORTOFRUTICULTURA

#### *HORTICULTURA*

---

Costa García, Joaquín Carlos	• Mejora genética de la producción y calidad en hortalizas
González Benavente-García, Alberto	• Mejora de las resistencias a virosis en tomate y pimiento
Martínez Serna, José Antonio	• Mejora sostenible de la producción agraria
Gomariz Pérez, Josefa	• Recuperación y catalogación de recursos filogenéticos
García Gil, José	• Mejora genética de alcachofa
Catalá Giménez, María Soledad	• Introducción de nuevos materiales plásticos de cubierta
Morales García, María Ángeles	• Adaptación de materiales de acolchado no contaminante
Martínez Jiménez, María Remedios	• Tecnología de cultivo preventiva de las enfermedades edáficas
López Marín, Josefa	• Potenciación del cultivo de maceta y complementos como alternativa al de flor cortada
Tora Gaona, María Antonia	
Carrillo Villalba, Joaquín	

#### *FRUTICULTURA*

---

Frutos Tomás, Diego	• Selección y mejora genética de material vegetal frutal
Rodríguez Navarro, Joaquín	• Adaptación y comportamiento de nuevo material vegetal frutal
Cos Terrer, José Enrique	• Aplicación de nuevas tecnologías culturales respetuosas con el medio ambiente
Carrillo Navarro, Antonio	• Multiplicación de especies leñosas
del Olmo García, Julio	• Biotecnología frutal
Jaén Jiménez, Luís	• Inventario y caracterización de recursos fitogenéticos frutales
García Brunton, Jesús	• Conservación de recursos fitogenéticos
Sánchez Sánchez, Miguel Ángel	• Biotecnología en recursos fitogenéticos
Costa García, Francisco Javier	
Rosa Fernández, Josefa Pilar	
Sánchez Jacome, María Concepción	

**DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL****MEJORA GENÉTICA ANIMAL**

---

Poto Remacha, Angel	• Mejora genética
Peinado Ramón, Begoña	
Alcaraz Mármol, Francisco	

**DESARROLLO GANADERO**

---

Lobera Losell, Juan Bautista	• Reproducción. Mejora genética
Crespo León, Fernando	• Aspectos medioambientales relacionados con la agricultura sostenible
Carrizosa Durán, Juan Antonio	
Godoy Molina, Antonio	
Caja López, Miguel Ángel	
Expósito Castillo, Antonio	
López Ruiz, Ángel	
Rabadán Soler, Antonio	
Urrutia López, Baltasar	

**ACUICULTURA**

---

García García, Benjamín	• Optimización económica de las granjas marinas.
López Vicente, Pedro	• Disminución de los costos de producción particularmente de la alimentación. Incremento del consumo y precio de venta. Calidad alimentaria
Martínez García, Carmelo	• Diversificación de especies y productos de la acuicultura marina
Aguado Jiménez, Felipe	• Interacción de acuicultura y medioambiente.
Hernández Llorente, María Dolores	• Impacto ambiental de las instalaciones de cultivos marinos en jaulas flotantes. Mitigación ambiental del impacto de las granjas marinas
Cerezo Valverde, Jesús	
Ballesteros Sánchez, María del Carmen	• Cultivos en jaulas flotantes en mar abierto
Martínez Romero, Cristino	• Sistemas de recirculación en acuicultura marina



**DEPARTAMENTO DE RECURSOS NATURALES****CULTIVOS ALTERNATIVOS**

---

Correal Castellanos, Enrique	• Pastos y cultivos forrajeros
de Hoyos Pujante, Aránzazu	• Plantas aromáticas y medicinales
Walker James, David	• Cultivos industriales
Jordán Bueso, María Josefa	
Martínez Conesa, Cristina	
Sotomayor Sánchez, José Antonio	
Quílez Simón, María	
Gamaza Beltrán, Ana María	
Candel Quijada, José Antonio	

**RIEGOS**

---

Rincón Sánchez, Luis Fernando	• Tecnología de los cultivos sin suelo
Pellicer Botía, Consuelo	• Reutilización de aguas residuales depuradas en el riego agrícola
Pérez Crespo, Josefa Aurora	• Minimización del impacto ambiental derivado del uso de abonos orgánicos e inorgánicos. Optimización de la nutrición nitrogenada en sistemas de cultivo ecológico e integrado
Abadía Sánchez, Ángel	
Saura Mármol, Miguel Ángel	• Optimización del uso del agua de riego disponible y de los fertilizantes
Gambín Sánchez, José Manuel	
Sáez Sironi, José Francisco	

**DESALINIZACIÓN DE AGUAS**

---

Navarro Sánchez, Joaquín	• Desalinización de aguas
Cánovas Cuenca, Juan	• Contaminación por nitratos
Martínez Vicente, David	• Descontaminación de suelos
Cánovas Moreno, Pedro Antonio	

**DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y PROTECCIÓN DE CULTIVOS****PROTECCIÓN DE CULTIVOS**

---

Lacasa Plasencia, Alfredo	• Aplicaciones de las técnicas moleculares para la detección y diagnóstico de organismos fitopatógenos
Martínez Lluch, Carmen	• Aplicación de marcadores moleculares para mejora genética, evaluación de la diversidad y estudios de genómica de plantas
Sánchez Sánchez, Juan Antonio	• Métodos de control de plagas para reducir los efectos de los agroquímicos
Martínez Francés, María Ángeles	• Inventarios entomológicos en los sistemas cultivados y en los naturales próximos
Ros Ibáñez, Caridad	• Control de enfermedades producidas por patógenos fúngicos del suelo
Guerrero Díaz, María del Mar	• Control de enfermedades fúngicas de evolución aérea
Torres Corchera, Jerónimo	• Control de nematodos fitopatógenos
	• Etiología de nuevas alteraciones en plantas

**BIOTECNOLOGÍA**

---

Cenis Anadón, José Luis	• Aplicación de marcadores moleculares para mejora genética, selección asistida por marcador y evaluación de la diversidad genética de plantas
Alcaraz Manzanera, Miguel	• Cartografía genética aplicada a estudios de Genómica de vid
Ruiz García, Leonor	• Aplicaciones de las técnicas moleculares para la identificación de variedades vegetales: vid y frutales de hueso
Martínez Mora, Celia	• Expresión de proteínas recombinantes en plantas e insectos mediante vectores virales
	• Genética poblacional y filogeografía de insectos vectores de virus: Bemisia tabaci

**VIROLOGÍA**

---

Padilla Villalba, Ventura	• Técnicas serológicas para detección de virus (ELISA, Inmunocaptura)
Hita Gambin, Isidro	• Técnicas moleculares para diagnóstico de virus (PCR)
Salmerón Gómez, Eliseo	• Diagnóstico de virosis mediante indexage biológico
García de Rosa, Beatriz	
Padilla Martínez, Carlos Ventura	

**FITOQUÍMICOS NATURALES**

---

Pascual Villalobos, María Jesús	• Insecticidas de origen natural
Ocaña Martínez, Miguel	• Plagas de almacén
	• Calidad del arroz
	• Cultivos oleaginosos de uso industrial
	• Otros cultivos no alimentarios

## DEPARTAMENTO DE CITRICULTURA

## CALIDAD Y GARANTÍA ALIMENTARIA

---

Flores Fernández-Villamil, María del Pilar	• Estudio de la composición funcional y nutritiva de productos hortofrutícolas
del Amor Saavedra, Francisco Moisés	• Estudio de los mecanismos involucrados en el desarrollo de
Fenoll Serrano, José	características organolépticas de los frutos
Hellín García, María del Pilar	• Dinámica de plaguicidas en el medioagrícola
Herrera Martínez, Esther	• Desarrollo de nuevos métodos analíticos para el control de residuos
Davo Beltrán, María del Mar	de plaguicidas en suelos, aguas y frutos
Ruiz Rubio, Marcos	• Desarrollo de una metodología para determinar el origen de la fuente de
Molina Menor, María Virtudes	nitrógeno en el medio agrícola
Romero Bonache, María Ascensión	

## CITRICULTURA

---

Porras Castillo, Ignacio	• Mejora de la producción y calidad de frutos cítricos mediante la aplicación de diversas técnicas de cultivo
Sánchez Baño, Manuel	• Optimización de los recursos hídricos disponibles
Moreno Verdú, María Monserrat	• Estudio del metabolismo secundario
Botía Ordaz, Pablo	• Prospección y selección de nuevos clones de mayor calidad y adaptados a condiciones ambientales extremas (sequía, caliza, salinidad, altas temperaturas, etc.)
Navarro Acosta, Josefa María	• Mecanización del cultivo (poda, recolección, etc.)
Pérez Tornero, Olaya	• Selección y mejora de nuevas variedades: Cruzamientos; Mutagénesis
García Oller, María Isabel	• Ensayos con fitorreguladores
Berna Serna, Juan Manuel	• Transformación genética
Pérez Pérez, Juan Gabriel	• Micropropagación de patrones de cítricos
	• Aplicación de las micorrizas a los cítricos. Estudios de salinidad y estrés hídrico
	• Riego deficitario en cítricos
	• Respuesta agronómica y productiva de cítricos en condiciones de sequía y salinidad
	• Optimización de la eficiencia en el uso del agua en cítricos mediante la utilización de sensores para la monitorización en continuo del sistema suelo-planta-atmósfera
	• Estudio de la respuesta de productos mejoradores para el mantenimiento del contenido de humedad del suelo

## DEPARTAMENTO DE VITICULTURA

## VITICULTURA Y ENOLOGÍA

---

Dabauza Micó, Mercedes	• Evaluación agronómica y enológica de clones seleccionados de uva Monastrell
Martínez Cutillas, Adrián	• Comportamiento agronómico y enológico de nuevas variedades
Fernández Fernández, José Ignacio	• Métodos de evaluación rápida y objetiva de la calidad de la uva a la entrada en bodega
Fernández García, Santos	• Obtención y selección de nuevas variedades de vid descendientes de Monastrell
Marín Martínez, Cristóbal	• Elaboración de vinos con mayor contenido polifenólico
Romero Azorín, Pascual	• Elaboración de vinos dulces
Gil Muñoz, María Rocío	
Sánchez Ruiz, Juan José	

## UVA DE MESA

---

Carreño Espín, Juan	• Regeneración de plantas de vid mediante cultivo in vitro
Peinado López de Teruel, Manuel	• Transformación genética de vid
Arnau Jiménez, Rosa María	• Desarrollo de aplicaciones de la Biotecnología en el campo de la calidad y seguridad alimentarias: Obtención de plantas de vid libres de virus
Tornel Martínez, Manuel	• Obtención de somaclones de vid mediante embriogénesis somática
	• Micropropagación de diversas especies vegetales
	• Obtención de nuevas variedades sin semilla (apirenas) adaptadas a las condiciones de la Región de Murcia
	• Obtención de nuevas variedades de uva de mesa resistentes a enfermedades fúngicas (oidio y mildiu)
	• Búsqueda y uso de marcadores moleculares para la mejora genética de uva de mesa
	• Optimización de técnicas de cultivo para las nuevas variedades de uva de mesa

## OFICINA DE TRANSFERENCIA DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN (O.T.R.I.)

**Red de Fincas Experimentales Cooperativas**

---

Regino ARAGÓN PALLARÉS. Responsable OTRI

**Sistema de Información Agraria de Murcia (SIAM)**

---

Manuel CARO AYALA

Fulgencio CONTRERAS LÓPEZ

José GARCÍA GARCÍA

**Sistemas de Información Geográfica (SIG)**

---

Manuel ERENA ARRABAL

Pedro GARCÍA SÁNCHEZ

Joaquín ATENZA JUÁREZ

**Laboratorio de calidad de materiales**

---

José A. GARCÍA MOYA

**Laboratorio Enológico de Jumilla**

---

José Vicente CARDENAL GARCÍA