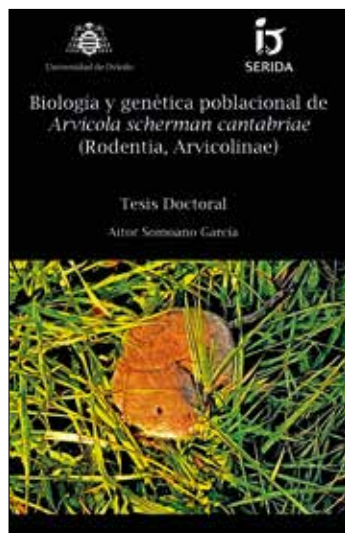


Tesis y seminarios

Tesis doctorales



Biología y genética poblacional de *Arvicola scherman cantabriae* (Rodentia, Arvicolinae)

Autor: Aitor Somoano García.

Año: julio 2017

Directores: Dres. Marcos Miñarro Prado (SERIDA), Jacint Ventura Queija (UAB).

Lugar de presentación: Facultad de Biología, Universidad de Oviedo.

La rata topera, *Arvicola scherman*, habita prados y plantaciones de frutales en las principales regiones montañosas de Europa occidental, donde excava madrigueras subterráneas. Esta especie se alimenta de las raíces de las plantas, incluyendo árboles frutales, pudiendo reducir su productividad e incluso provocar su muerte. De hecho, la subespecie *A. scherman cantabriae* puede causar importantes pérdidas económicas en las plantaciones de manzano de Asturias (noroeste de España). Dada su condición de plaga, el programa nacional de control de topillos promueve la reducción del crecimiento poblacional de esta especie mediante la utilización de prácticas específicas y sostenibles, excluyendo el uso de rodenticidas. No obstante, la implementación y el éxito de métodos de control eficaces requiere un profundo conocimiento de aspectos relacionados

con la biología y la ecología de *A. scherman cantabriae*.

Se realizó la necropsia de más de 800 individuos de *A. scherman cantabriae* capturados a lo largo de dos ciclos anuales en 10 plantaciones de manzano en el centro-oriental asturiano. Se obtuvo información sobre la actividad reproductiva y la edad relativa. Se observó la presencia continua de ejemplares jóvenes y hembras gestantes durante todo el año. Los cambios intra-anales en los órganos sexuales de los machos no afectaron significativamente a la reproducción a escala poblacional. Se concluye que la especie puede reproducirse continuamente en hábitats adecuados situados a altitudes relativamente bajas en el noroeste de España. Cada hembra madura de *A. scherman cantabriae* es capaz de gestar 7,30 camadas al año y se obtuvo un tamaño de camada medio de 3,76 embriones. El número potencial de crías por hembra y año es de 28,25.

El ADN genómico de 137 individuos de *A. scherman cantabriae* se analizó mediante la amplificación por PCR de 12 loci microsatélite. El escaso número de inmigrantes detectados y los valores positivos del coeficiente de endogamia observados en la mayoría de colonias sugieren que el crecimiento poblacional es más probable que tenga lugar por reclutamiento que por migración. La diversidad genética de esta especie fue relativamente baja en esta zona de estudio. Además, se observó una subdivisión poblacional en cuatro grupos genéticos a una escala de 120 km² y un fuerte patrón de aislamiento por distancia. El paisaje mostró una alta complejidad y escasa conectividad, donde un aumento de hábitats favorables no se relacionó con un aumento del flujo genético entre colonias de *A. scherman*. Se concluye que el paisaje de esta zona agrícola, conformado por un mosaico de pequeñas parcelas con diferentes usos del suelo junto con setos y bordes arbolados, dificulta la dispersión y/o asentamiento de esta especie en hábitats colonizados.

Sería recomendable mantener las estrategias de control poblacional de *A. scherman cantabriae* durante todo el año. El seguimiento de cada grupo genético será esencial para conocer la dinámica poblacional y establecer estrategias de control coordinadas. Preservar y pro-

mover este paisaje irregular ayudaría a restringir la difusión poblacional de esta especie.



Bases fisiológicas y moleculares del crecimiento estacional de *Pinus Pinaster Aiton*

Autora: Carolina de la Torre González.

Año: julio 2017

Directoras: Dras. Isabel Feito (SERIDA), Ana M^a Rodríguez (Universidad de Oviedo).

Lugar de presentación: Universidad de Oviedo.

Pinus pinaster es una especie ampliamente distribuida a lo largo de la cuenca mediterránea, que cuenta con una gran relevancia, sobre todo en programas de reforestación, debido a su alta capacidad para crecer en ambientes con recursos limitantes. Ante un panorama de cambio global, en el que se espera que el estrés por sequía afecte a las poblaciones, estudiar los caracteres ecofisiológicos asociados a la respuesta frente al estrés hídrico permite definir el modelo de respuesta y determinar su posible correlación con el crecimiento vegetal. Uno de los caracteres observado en pináceas al que le afecta la dis-

ponibilidad hídrica es el policiclismo, carácter heredable que afecta tanto a la productividad como a la calidad de madera. El conocimiento de la cadena de señalización que define la pauta de desarrollo de la yema apical es fundamental para conocer cómo se regula la expresión del policiclismo y podría permitir, además, su incorporación a programas de mejora genética y conservación de recursos forestales.

En esta Tesis, se ha evaluado la expresión de caracteres ecofisiológicos y morfológicos en tres procedencias de *P. pinaster* de origen contrastante durante varios periodos de crecimiento anual en condiciones ambientales en la Finca Experimental La Mata (Grado). De estos caracteres, ha cobrado gran importancia el estudio del carácter policiclismo y los mecanismos que lo regulan. Para ello, se ha establecido un sistema experimental que permitiese la inducción de varios ciclos de crecimiento consecutivos con el fin de valorar el efecto del fotoperiodo sobre el perfil hormonal y su relación con la respuesta policíclica.

Paralelamente se ha desarrollado un método analítico para la extracción, purificación y cuantificación de diferentes clases de fitohormonas y reguladores del crecimiento vegetal que ha demostrado ser rápido, simple y eficaz para evaluar 20 reguladores de crecimiento utilizando UHPLC-MS/MS y que ha sido optimizado en matrices complejas y validado para la especie estudiada.

Del análisis de los caracteres morfométricos y ecofisiológicos, se ha comprobado que el factor procedencia ha condicionado la respuesta al ambiente, aun cuando se desarrollan en una zona métrica. La procedencia atlántica ha seguido una estrategia más conservadora, priorizando mantener el estatus hídrico frente a la eficiencia fotosintética, pero incrementando el crecimiento cuando las condiciones son favorables. Por el contrario, las procedencias mediterráneas han utilizado una estrategia derrochadora, manteniendo la tasa fotosintética, y el crecimiento durante un período más largo, aunque su eficiencia es inferior debido probablemente a las condiciones poco contrastantes en las que se desarrollaron.

El ambiente ha desencadenado respuestas más marcadas en el desarrollo de *P. pinaster*, siendo la primavera la estación más contrastante, tanto en caracteres fisiológicos como morfométricos. La similitud en el comportamiento entre el verano y el otoño probablemente esté asociada a un escenario más restrictivo para el crecimiento.

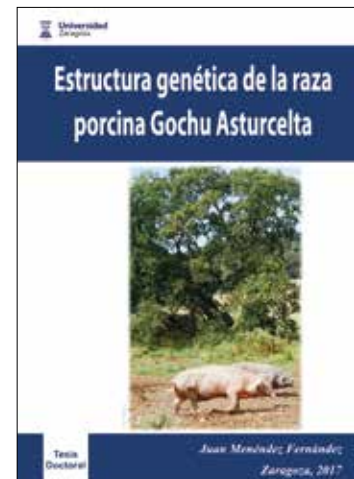
Tras el estudio del perfil hormonal, se ha encontrado asociación del mismo con la respuesta diferencial al ambiente de las distintas procedencias, siendo AIA, BA y GA3 las fitohormonas que marcaron las diferencias entre procedencias e iPR, GA9 y EB según estaciones, aunque no en ninguna de las señales químicas que actúan frente a estrés (ABA, JA o SA), indicando que las plantas no estuvieron bajo condiciones limitantes severas.

Se ha observado que las condiciones edafoclimáticas en las que se desarrollaron las procedencias de *P. pinaster* han favorecido la expresión del carácter policiclismo, siendo éste un carácter generalizable a todos los genotipos estudiados.

Las condiciones de cultivo con luz continua y temperatura constante (25 °C) son las más favorables para inducir la respuesta policíclica en plantas mayores de 1,5 años con periodos de reposo muy breves, siendo estas condiciones, además, inductoras de una rápida maduración de las plantas de todas las edades evaluadas.

En el análisis del perfil hormonal de las yemas de *P. pinaster* se comprobó que éste es característico según la localización, el estado de crecimiento y la ontogenia de las yemas. En el perfil hormonal característico del estado ontogénico son las citoquininas las fitohormonas más implicadas.

La liberación del control apical de las yemas verticales mediante poda de la yema líder dio lugar a la modificación en su perfil hormonal, semejante al esperado si éstas hubiesen estado bajo dominancia apical.



Estructura genética de la raza porcina Gochu Asturcelta

Autor: Juan Menéndez Fernández

Año: diciembre 2017

Directores: Dr. Félix Goyache Goñi, Dra. Isabel Álvarez Fernández (SERIDA)

Lugar de presentación: Universidad de Zaragoza.

El Gochu Asturcelta es una raza porcina autóctona de Asturias en extremo riesgo. Tradicionalmente se asume que la raza pertenece al tronco porcino celta de la península ibérica al igual que la raza de cerdo Celta de Galicia o la raza Bísara de Portugal. El Gochu Asturcelta prácticamente se extinguió en la segunda mitad del siglo XX. En 2002 se fundó la asociación de criadores ACGA que, con seis fundadores, inició un programa de conservación con el apoyo del Gobierno del Principado de Asturias. El objetivo de la presente Memoria es contribuir al conocimiento de la raza de Gochu Asturcelta mediante la caracterización de su variabilidad genética y de sus relaciones genéticas con las poblaciones porcinas más importantes de su entorno geográfico. Para cumplir con ese objetivo se han aplicado diversas metodologías para: a) evaluar el efecto de la política de apareamientos recomendada por ACGA para el mantenimiento de la variabilidad genética de la raza; b) conocer si la asignación del Gochu Asturcelta al grupo de cerdos de estirpe celta de la península ibérica tiene respaldo genético; y c) estimar el tamaño efectivo de la raza de Gochu Asturcelta para predecir su viabilidad.

En un primer trabajo (Menéndez et al. 2015) se desarrolló una batería de 20 microsatélites para llevar a cabo pruebas de paternidad en el marco del programa de conservación.

Un segundo trabajo (Menéndez et al. 2016a) analizó la información registrada en el Libro Genealógico de la raza de Gochu Asturcelta desde su fundación hasta agosto de 2014 para determinar si la política de apareamientos llevada a cabo por ACGA ha tenido éxito en preservar la representación de los fundadores en la población presente.

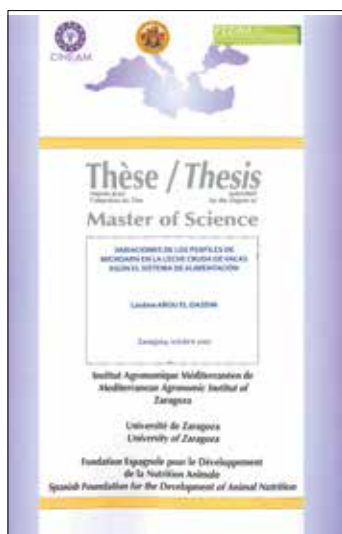
En un tercer trabajo (Menéndez et al. 2016b) la variabilidad genética del Gochu Asturcelta se evaluó mediante marcadores moleculares para conocer las relaciones genéticas de la raza con otras de importancia en su entorno geográfico y para determinar si la clasificación tradicional del cerdo autóctono de la península ibérica en estirpes celta e ibérica tiene concordancia con diferencias genéticas entre marcadores neutros. Dos poblaciones de Gochu Asturcelta (inicial y presente) se genotiparon con 17 marcadores de tipo microsatélite para tener en cuenta la posible deriva acumulada desde el inicio del programa de cría de la raza.

Un cuarto trabajo (Menéndez et al. 2016c) profundizó en la estimación del tamaño efectivo (N_e) de la población de Gochu Asturcelta. Se aplicaron diversas metodologías para estimar N_e mediante información molecular y se compararon sus resultados con estimas genealógicas. Se utilizaron genotipos de 17 marcadores microsatélites obtenidos en 780 individuos de raza Gochu Asturcelta que se asignaron a dos generaciones filiales discretas (F3 y F4) y cinco cohortes anuales (desde 2006 a 2010) con solapamiento generacional.

Esas estimas pueden ser útiles cuando se dan las siguientes condiciones: a) el tamaño muestral es suficiente y representativo de la estructura genética y relaciones de parentesco de la población; b) se aplica corrección por sesgo demográfico; y c) el intervalo utilizado para la definición de la cohorte a genotipar no es arbitrario y se corresponde con la demografía y estructura genética de la población. Esas restricciones hacen que los métodos basados en la toma de una sola muestra no tengan una gran ventaja operativa.

La particular estructura de la población de Gochu Asturcelta, con presencia de generaciones discretas y solapadas en su pedigrí, la convierte en un escenario único para el desarrollo de futuros estudios tendientes a establecer la relación entre autocigosis (homocigosis debida identidad por descendencia) e identidad por estado.

Trabajos Fin de Máster



Variaciones de los perfiles de microARN en la leche cruda de vacas según el sistema de alimentación

Autora: Loubna Abou El qassim.

Año: octubre 2017

Directores: Dres. Fernando Vicente Mainar, Luis J. Royo Martín (SERIDA).

Lugar de presentación: Instituto Agronómico Mediterráneo (Universidad de Zaragoza).

Los sistemas de producción de leche en Asturias son variables, desde sistemas extensivos con una alimentación basada en el pastoreo y con mínimo aporte de concentrados, a sistemas intensivos donde las vacas están en estabulación permanente con una alimentación basada en el aporte de altas cantidades de concentrados. La leche producida en cada sistema tiene características que lo diferencian de los demás.

En este trabajo se pretende identificar moléculas propias de la leche que permitan asociar su presencia o nivel de expresión con el sistema de manejo, sirviendo así como biomarcadores específicos de la leche cruda de vaca. Para ello, se seleccionaron 22 ganaderías de leche representativas del total de las ganaderías de leche de Asturias. Se visitaron en otoño y primavera, muestreando leche de tanque y los alimentos que consumían las vacas que estaban produciendo esa leche. Además, se hizo una encuesta alimentaria y de manejo en todas ellas, y se extrajo el ARN total de la fracción grasa de la leche de todas las muestras.

Los resultados obtenidos indican que los miRNA pueden ser utilizados como una herramienta de certificación del sistema de producción de la leche cruda de vaca, y se propone al miRNA **bta-mir-215** como posible marcador de leche de vaca cruda producida en base a forraje verde.

Financiación:

INIA RTA2014-00086-C03-02



Mapeo por asociación de la resistencia a las razas 3 y 38 de antracnosis en judía común

Autora: Cristina García Fernández.

Año: junio 2017

Directora: Dra. Ana Campa Negrillo.

Lugar de presentación: Universidad de Oviedo.

La antracnosis, causada por el hongo *Colletotrichum lindemuthianum*, es una enfermedad que afecta gravemente a los cultivos de judía común (*Phaseolus vulgaris* L.). El patógeno es extremadamente variable, lo que se traduce en la existencia de razas, y se distribuye a nivel mundial, siendo muy incidente en zonas de climas suaves y húmedos como la zona norte de España.

El objetivo de este estudio fue identificar, mediante un mapeo por asociación o GWAS, las regiones genómicas candidatas a estar implicadas en el control de la resistencia a las razas 3 y 38 de antracnosis, ambas presentes en el norte de España. Para ello, se utilizó un panel de 300 materiales de judía que había sido previamente genotipado mediante GBS para 2998 marcadores de tipo SNP. Al evaluar la respuesta a la raza 3 de an-

tracnosis de cada una de las entradas que componen el Panel, la mayor parte de las mismas fueron susceptibles, y solo 76 presentaron una respuesta resistente. De igual manera, la respuesta a la raza 38 fue evaluada en el panel y solamente 76 entradas presentaron una respuesta resistente. El análisis de GWAS permitió identificar que la resistencia a la raza 3 de antracnosis podría estar controlada por genes localizados en los *clusters* Co-3, Co-4 y Co-2, y se han identificado otras regiones candidatas, que no se corresponden con *clusters* Co- previamente descritos, en los cromosomas Pv03, Pv05, Pv06, Pv07, Pv08 y Pv10. Se ha identificado que la resistencia a la raza 38 de antracnosis podría estar controlada por genes localizados en los *clusters* Co-3, Co-5 y Co-2, así como por otras regiones que no se corresponden con *clusters* Co- previamente descritos, localizadas en los cromosomas Pv01, Pv02, Pv05, Pv06, Pv08, Pv09 y Pv10.

La identificación de nuevas regiones cromosómicas implicadas en el control de la resistencia a antracnosis permitirá ampliar las herramientas disponibles para futuros programas de mejora genética frente a este patógeno.



El castaño (*Castanea sativa* Mill.) es actualmente una de las frondosas más importantes en las zonas productoras debido a su capacidad para generar recursos tanto a nivel energético, como maderable y alimenticio.

En el Principado de Asturias, el castaño tiene gran importancia debido a su aprovechamiento maderero. Su distribución abarca 145.096 ha (IV Inventario Forestal Nacional, 2012) y es gestionado principalmente como monte bajo.

Sin embargo, actualmente el castaño está amenazado por una importante plaga que debe ser atajada, la denominada avispilla del castaño *Dryocosmus kuriphilus*. En este trabajo se plantea como objetivo general el valorar la diferente sensibilidad al ataque de *Dryocosmus kuriphilus* de tres clones híbridos (*C. sativa* x *C. crenata*) y su interacción con el perfil hormonal.

Como material de estudio se utilizaron tres clones híbridos, procedentes del cruzamiento del castaño europeo (*C. sativa* Mill) y la especie japonesa (*C. crenata* Siebold & Zucc.), desarrollados buscando resistencias a la tinta (*Phytophthora cinnamomi* y *P. cambivora*) y que cobran gran importancia ya que podrían desarrollar fuentes de resistencia frente a la plaga que se nos presenta formadora de agallas.



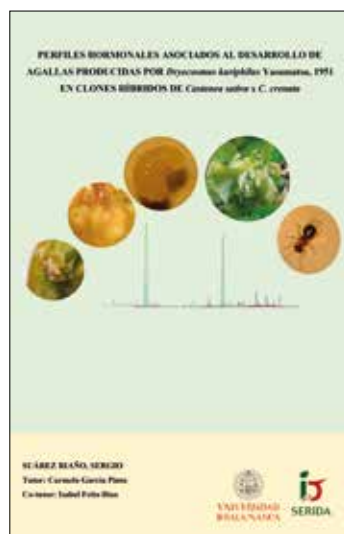
Subproducto industrial VS ácido tánico comercial en la tolerancia a arsénico de *Medicago sativa*

Autor: M^a Laura Gómez Fernández.

Año: julio 2017

Directoras: Dras. María Aida González Díaz (Universidad de Oviedo), Isabel Feito Díaz (SERIDA).

Lugar de presentación: Universidad de Oviedo.



Perfiles hormonales asociados al desarrollo de agallas producidas por *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 en clones híbridos de *Castanea sativa* x *C. Crenata*

Autor: Sergio Suárez Riaño.

Año: 2017

Directores: Dr. Carmelo García Pinto (Universidad de Salamanca)
Dra. Isabel Feito Díaz (SERIDA).

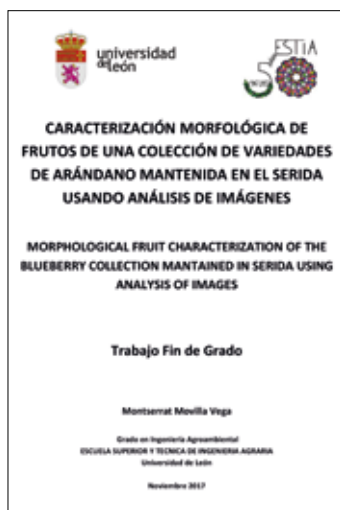
Lugar de presentación: Universidad de Salamanca.

reducir el nivel de los contaminantes. Uno de los métodos más “amigables” con el medio ambiente es la fitorremediación y *Medicago sativa* L. (alfalfa), es una planta capaz de acumular As u otros metales pesados en sus tejidos y desarrollarse en estos suelos contaminados. Estos metales pesados no siempre están disponibles para la planta y para incrementar esta disponibilidad se utilizan agentes quelantes.

En este trabajo se estudia el efecto del ácido tánico comercial y de un extracto de eucalipto, con alto contenido en compuestos fenólicos (46 mg EAG g⁻¹) para favorecer la acumulación de As y proteger de la toxicidad del este metaloide a plantas de *M. sativa* cultivadas en hidroponía durante 24 h. Los resultados muestran que ambos compuestos promueven la acumulación de As, pero no modifican la tasa de translocación a la parte aérea. Además, el AT parece que actúa como un bioestimulante favoreciendo la síntesis de pigmentos. Es más, tanto el AT y el EE cuando se aplican con el As, promueven la síntesis de *novo* de biotioles, lo que indica que podrían intervenir en la detoxificación de As. En cuanto al estrés oxidativo, la aplicación de AT + As incrementa los niveles de H₂O₂ y MDA y disminuye el contenido de pigmentos, lo que indica que la planta soporta estrés oxidativo en la parte aérea, por la presencia de As.



Trabajos Fin de Grado



Caracterización morfológica de frutos de una colección de variedades de arándano mantenida en el SERIDA usando análisis de imágenes

Autora: Montserrat Movilla Vega.

Año: noviembre 2017

Directores: Dres. Juan José Ferreira Fernández (SERIDA), Pedro Casquero Luelmo (Universidad de León).

Lugar de presentación: Escuela Superior y Técnica de Ingeniería Agraria, Universidad de León.

El cultivo de arándano (*Vaccinium* spp) ha experimentado una gran expansión en el norte de España en los últimos años. El objetivo de este trabajo fue contribuir a la caracterización de la colección de arándanos mantenida en el SERIDA utilizando el análisis de imágenes de frutos. Se valoraron cuatro caracteres relacionados con las dimensiones de fruto, tres índices y tres variables de color en 61 variedades. Los resultados permitieron identificar una amplia variación morfológica y mediante un análisis cluster-plot, las variedades se agruparon en tres grupos principales. Los tres grupos se diferencian en cuanto a las dimensiones del fruto y en la tonalidad de color verde-rojo de su interior. La utilización de esta metodología ofrece algunas ventajas como la posibilidad de caracterizar los frutos fuera de la época de recolección y minimizar la subjetividad de la toma de los datos.



Reguladores de crecimiento y fitoquelatinas en respuesta a arsénico en plantas de *Medicago sativa* L.

Autora: Carmen Cascón Calvo.

Año: julio 2017

Directores: Dras. Aida González Díaz (Universidad de Oviedo), Isabel Feito Díaz (SERIDA).

Lugar de presentación: Universidad de Oviedo.

La concentración de metales pesados en el suelo se encuentra en continuo aumento debido a la actividad industrial y antropogénica. La toxicidad del arsénico para las plantas supone alteraciones en el desarrollo de las mismas y su entrada en la cadena trófica supone un riesgo para la salud humana. *Medicago sativa* L. es una planta herbácea usada como cultivo forrajero que, además, podría ser usada en procesos de fitoestabilización.

El objetivo de este estudio es evaluar las respuestas frente al As y la capacidad de acumulación de *M. sativa*. Los análisis se realizaron tras la exposición durante 24 h a una concentración 30 μM de As V y se valoraron los compuestos tiólicos, el nivel de peroxidación lipídica, el contenido en pigmentos y en prolina, además del perfil hormonal en presencia y ausencia de As. Los resultados obtenidos indican que la alfalfa tendría un papel importante en la fitoestabilización ya que acumula altas concentraciones del metaloide en las raíces y presenta una baja tasa de translocación a la parte aérea. Además se ha visto que la exposición a As promueve la activación del sistema de detoxificación, basado en la acumulación de compuestos tiólicos, principalmente en raíz, y genera estrés oxidativo, fundamentalmente en parte aérea, del que actúan como indicadores MDA, pigmentos, prolina y las fitohormonas y reguladores del crecimiento.