

Regulación de la transpiración en tomate ante déficit hídrico mediante el uso de agonistas de los receptores del ácido abscísico

Mayra Sanchez-Olvera, Constanza Martin-Vasquez, Mar Bono, Cristian Mayordomo
Alberto Coego, Jonatan Illescas-Miranda, Antonio Granell y Pedro L. Rodriguez*¹

1: Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universidad Politécnica de Valencia, ES-46022 Valencia. *prodriguez@ibmcp.upv.es

Palabras clave: ácido abscísico, receptores de ABA, agonistas, tomate

Introducción y objetivo

El tomate ocupa el primer lugar entre las especies hortícolas en producción de fruto. A escala mundial, la producción anual de tomates asciende a casi 190 millones de toneladas. En comparación, en todo el mundo se cultivan tres veces más patatas y seis veces más arroz. Sin embargo, casi un 40% se cultiva para la industria procesadora, lo que convierte a los tomates en líder en producto hortícola procesado. De este modo, cada año se procesan cerca de 70 millones de toneladas de tomates en fábricas de las marcas más importantes de la industria alimentaria mundial. Los ingresos del mercado mundial del tomate ascendieron a 190.000 millones de dólares en 2018. Su producción mundial se ha duplicado en los últimos 20 años y España lidera la producción y exportación de tomate fresco en Europa.

El ácido abscísico (ABA) es una hormona importante en la regulación de diferentes procesos del desarrollo vegetal, en la maduración de ciertos frutos y en la respuesta de las plantas al estrés abiótico. La maduración de frutos carnosos como el tomate es un proceso fundamental no solo para asegurar la descendencia a través de las semillas sino también para asegurar la calidad y composición nutritiva del fruto. El etileno es una hormona crucial para regular y desencadenar la maduración del fruto climatérico. No obstante, su interacción con otras hormonas (auxinas, ABA) es importante para la maduración de diversos frutos. Varios estudios en tomate indican que la aplicación exógena de ABA puede acelerar la maduración del fruto. El ABA también es importante en la regulación del metabolismo de la pared celular y retención de agua, afectando a la firmeza del fruto y siendo necesario para tolerar el almacenamiento poscosecha.

La sensibilidad del tomate cultivado a la salinidad y al déficit hídrico perjudica notablemente el rendimiento del tomate. Por ejemplo, el tomate sólo puede tolerar hasta 2,5 dS/m de CE (suelo ligeramente salino), por encima de ese valor se observa un impacto negativo considerable en el rendimiento. En cuanto al déficit hídrico, se observa un impacto negativo en el rendimiento cuando se limita el suministro de agua en un 50% en comparación con el control bien regado. Bajo tales estreses, el rendimiento del tomate y la calidad del fruto se ven muy afectados con diferentes efectos dependiendo de la variedad, la etapa y la duración de la aplicación del estrés y también de la interacción con otras condiciones ambientales como la temperatura, la luz o la humedad relativa. La activación de la ruta del ABA puede ser una estrategia novedosa para mitigar el daño por estrés abiótico, incrementando la producción y la calidad del fruto.

El ABA es percibido por la familia PYR/PYL/RCAR de receptores. Ello conduce a la formación de complejos con el grupo A de proteínas fosfatasa tipo 2C (PP2C), lo que produce la inhibición de PP2Cs y la activación concomitante de tres proteínas quinasas activadas por ABA, denominadas SnRK2s, las cuales fosforilan diversas dianas y activan la señalización por la hormona. Un efecto del ABA es inducir el cierre de estomas en situaciones de escasez hídrica para reducir la pérdida de agua por transpiración. El aumento de ABA endógeno inducido por la sequía es muy eficiente para reducir la pérdida de agua, pero desafortunadamente, la aplicación exógena de ABA no es muy eficaz debido a la fragilidad de su estructura, que es sensible a la luz ultravioleta, y a su rápido catabolismo por diferentes vías. Por tanto, existe un campo emergente para el desarrollo de moléculas que actúen como agonistas de los receptores del ABA pero que tengan una vida media más larga. Estos agonistas son moléculas pequeñas que pueden modular la señalización de ABA de forma oportuna, dinámica y exógena. Además, su persistencia después de la

aplicación exógena debe ser superior a la del ABA. En este trabajo tenemos como objetivo explorar el uso de un agonista de los receptores de ABA en tomate, concretamente iSB09, para reducir la transpiración de la planta ante déficit hídrico (Lozano-Juste et al., 2023)

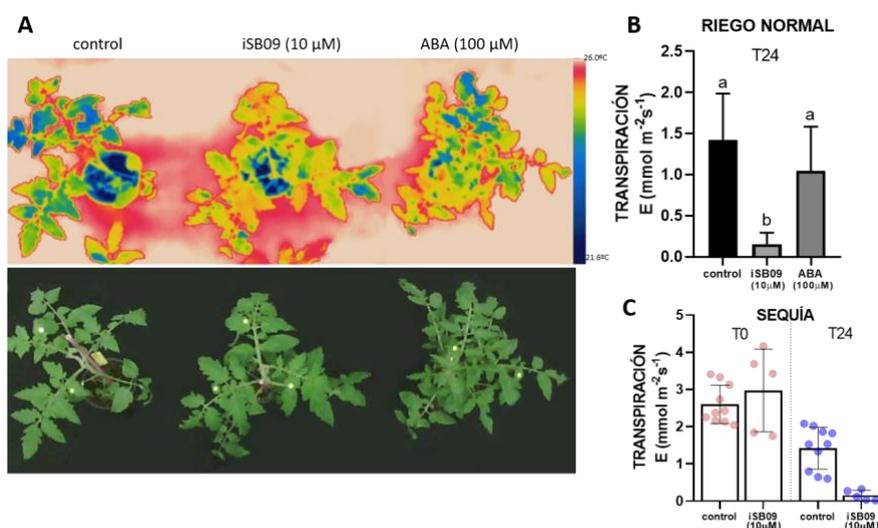
Material y métodos:

En este trabajo se utilizó *Solanum lycopersicum* cultivar MoneyMaker. Las plantas se crecieron en macetas de 0,5 L utilizando sustrato universal y se colocaron en una cámara de crecimiento en día largo (16:8 h luz/oscuridad) con condiciones controladas: temperatura 26:20°C (día noche), humedad 60%.

Los análisis de intercambio de gases se llevaron a cabo en hojas de tomate completamente desarrolladas (N = 30). La fotosíntesis (Pn), el CO₂ intracelular (Ci), la conductancia estomática (gs) y la tasa de transpiración (E) se midieron utilizando un analizador de gases infrarrojo portátil (LCi-T). Las mediciones se realizaron a una concentración ambiental de CO₂ (400 ppm), una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) de 1000 μmol m⁻² seg⁻¹ (optimizada con una curva de luz) y un flujo de aire de la cubeta de 500 ml min⁻¹. También se midieron la conductancia estomática (gs) y la eficiencia cuántica del fotosistema II (Φ PSII) en hojas utilizando un porómetro/fluorímetro portátil LI-600 (LICOR). Las mediciones se llevaron a cabo a una concentración ambiental de CO₂ y una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) de 150 μmol m⁻² seg⁻¹.

Resultados y conclusión:

Hemos utilizado termografía de IR en tomate para medir la bioactividad de iSB09 como antitranspirante (Lozano-Juste et al., 2023). La pulverización foliar de iSB09 mostró un efecto antitranspirante superior al del ABA, según revela la termografía de IR tras 24 h de aplicación (Figura 1A). La termografía permite cuantificar la temperatura de la hoja, que es un indicador indirecto de la apertura estomática. Para obtener mediciones directas del efecto de iSB09 sobre la función estomática, utilizamos el porómetro LI-600 para



Regulación de la transpiración de tomate mediante un agonista de los receptores del ABA. A. Termografía de IR en tomate después de 24 horas del tratamiento, control sin agonista, iSB09 o ABA. B. Transpiración de las plantas 24 horas después de la pulverización con riego normal. C. Transpiración de las plantas 24 horas después de la pulverización en condiciones de sequía.

24 h. Por el contrario, con una dosis de 100 μM, el ABA no mostró un efecto significativo después de 24 h (Figura 1B). Esta corta persistencia del ABA tras aplicación exógena es debido a su sensibilidad a los rayos UV y al catabolismo en las plantas. En condiciones de sequía, la aplicación de 10 μM iSB09 incrementaba el efecto sobre el cierre de estomas y reducía marcadamente la transpiración de la planta (Figura 1C)

Conclusión: Estos experimentos muestran que la molécula iSB09 es activa en tomate, actuando como un agonista de los receptores de ABA de tipo PYL1. La actividad de la molécula sobre el cierre de estomas se midió mediante termografía de IR y medidas de gs y transpiración. Su comparación con el efecto del ABA aplicado mediante pulverización, indica que iSB09 es más efectivo y persistente que el ABA. Estos resultados sugieren que este agonista podría ser utilizado como sustituto del ABA para reforzar la respuesta del tomate al estrés hídrico o bien para regular la maduración del fruto.

Referencias:

Lozano Juste et al., (2023). Structure-guided engineering of a receptor-agonist pair for inducible activation of the ABA adaptive response to drought. *Science Advances* 9, eade9948. doi: 10.1126/sciadv.ade9948

Agradecimientos

Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT y contó con el apoyo de MCIN con financiación de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y de la Generalitat Valenciana.

OPTIMIZACIÓN DE LAS VARIABLES DEL PROCESO DE ENCAPSULACIÓN DEL ÁCIDO SALICÍLICO PARA UN ESCALADO INDUSTRIAL SOSTENIBLE

Jimmy Sampedro-Guerrero^{1,2}, Vanessa A. Avendaño^{1,2}, Andrea Dalmau-Balaguer¹, Aurelio Gómez-Cadenas¹, Carolina Clausell-Terol^{2,*}.

1: Departamento de Biología, Bioquímica y Ciencias Naturales, Universitat Jaume I, 12071 Castellón de la Plana, Spain

2: Departamento de Ingeniería Química, Instituto Universitario de Tecnología Cerámica, Universitat Jaume I, 12071 Castellón de la Plana, Spain

*autor de correspondencia: cclausel@uji.es

palabras clave: diseño factorial, fitohormonas, quitosano, secado por pulverización, sílice amorfa

Introducción y objetivo

El cambio climático conduce a alteraciones extremas en el clima, incluyendo períodos de frío intenso, sequías, olas de calor, lluvias extremas e inundaciones. Estos eventos desfavorables pueden afectar a las plantas, alterando su tasa de crecimiento y desarrollo. La percepción de estímulos externos está regulada por fitohormonas, entre ellas el ácido salicílico (SA), que regulan respuestas de crecimiento y defensa. Las fitohormonas encapsuladas han ganado atención como un novedoso tratamiento paliativo para las plantas sometidas a estrés ambiental. Existen varios métodos para encapsular biomoléculas, y entre ellos, la atomización de suspensiones ha surgido como un proceso especialmente atractivo.

En un estudio previo realizado en el Grupo de Ecofisiología y Biotecnología de la Universitat Jaume I, se formularon muestras encapsuladas de SA con sílice/quitosano en diferentes proporciones, y se analizaron sus características físico-químicas, dando como resultado un prometedor producto antifúngico [1]. Sin embargo, se desconoce si la temperatura de pulverización afecta a la estructura y propiedades del SA. Por tanto, este estudio tiene como primer objetivo, formular muestras encapsuladas de SA utilizando un solvente orgánico para reducir la temperatura de trabajo durante la etapa de atomización.

El segundo objetivo se centra en optimizar las dos operaciones unitarias implicadas en el proceso de encapsulación: molienda vía húmeda y secado por atomización. Para ello, se emplea un diseño experimental con un análisis factorial fraccionado de dos niveles para analizar el impacto de las variables clave del proceso: i) contenido en sólidos, ii) velocidad de molienda, iii) tiempo de molienda, iv) temperatura de secado, v) velocidad de alimentación de la suspensión y vi) flujo de aire de secado. El objetivo general es discernir las variables que afectan en mayor medida al proceso y determinar sus valores óptimos para el proceso de encapsulación. Esta optimización tiene un doble propósito: reducir el consumo energético y minimizar la huella ambiental del proceso a escala industrial.

Material y métodos

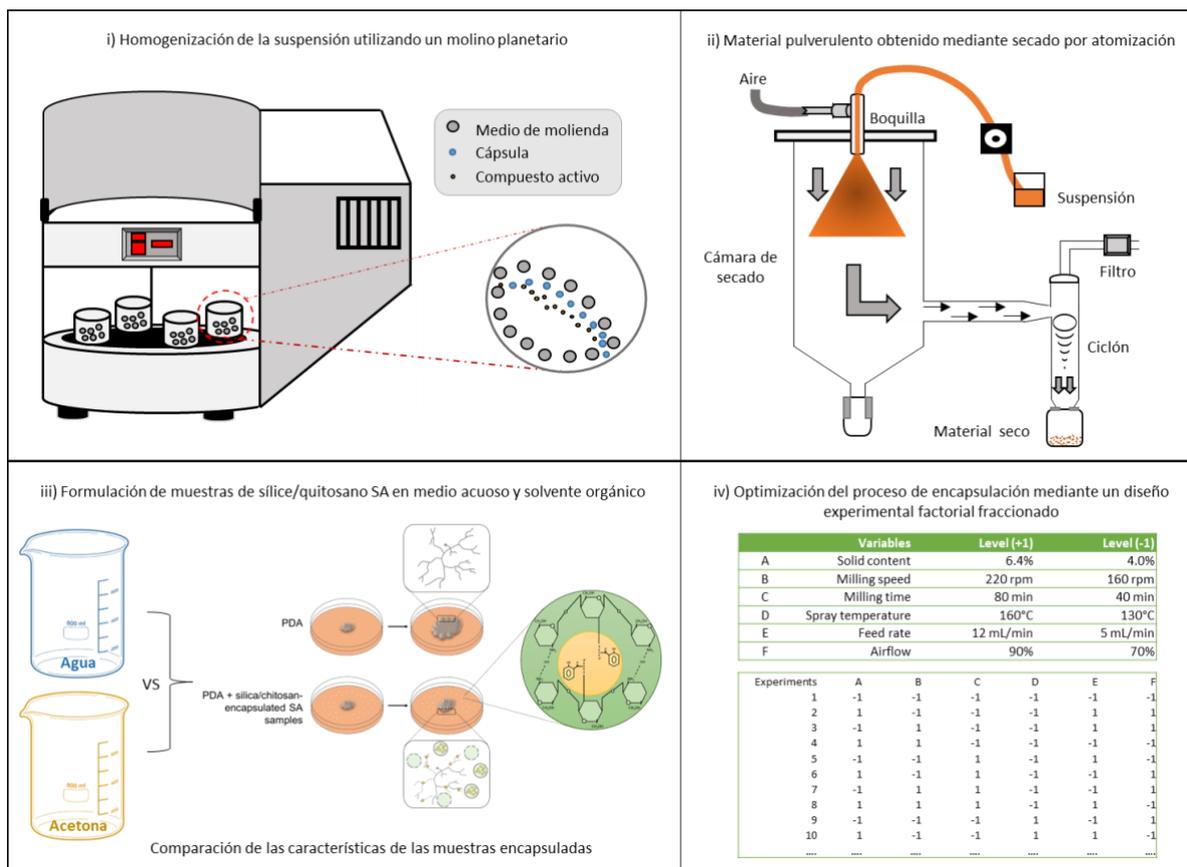


Figura 1. Metodología general empleada

Resultados y conclusión

Los resultados revelan que no es necesario usar un solvente orgánico para reducir la temperatura durante la atomización, puesto que el potencial antifúngico de las muestras de SA encapsulados no mejoró. Los encapsulados formulados con acetona inhibieron de manera efectiva el crecimiento micelial de *Alternaria alternata* y *Penicillium digitatum* en aproximadamente un 50%.

Por otro lado, la optimización del proceso de encapsulación reveló que las variables más influyentes son el contenido en sólidos y la velocidad y tiempo de molienda. Estas tres variables desempeñan un papel crucial en la homogeneización del material y condicionan el desgaste por molienda. Un contenido en sólidos bajo, junto a una mayor velocidad y tiempo de molienda, sobredimensiona el rendimiento y la eficiencia de encapsulación, afectando asimismo a la humedad y la superficie específica de los encapsulados.

De la misma forma, la velocidad de alimentación, el flujo de aire y la temperatura de pulverización son críticos para el secado adecuado de las suspensiones. Una velocidad de alimentación rápida, combinada con un bajo flujo de aire, no proporciona el tiempo necesario para un secado adecuado del material, lo que conduce a su adherencia a las paredes. Estas complicaciones durante el proceso de atomización se traducen en valores bajos en la eficiencia de encapsulación del SA y la disminución de su efecto antifúngico.

El diseño experimental factorial fraccionado permitió optimizar las variables del proceso, mejorando la encapsulación y las propiedades finales de los encapsulados. Estos resultados son un punto de partida valioso para formular otras moléculas derivadas de plantas que tiene un papel crucial en la tolerancia al estrés.

Referencias

- [1] J. Sampedro-Guerrero, V. Vives-Peris, A. Gomez-Cadenas, C. Clausell-Terol, Improvement of salicylic acid biological effect through its encapsulation with silica or chitosan, *Int. J. Biol. Macromol.* 199 (2022) 108–120. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.124>.

Agradecimientos

Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT (AGROALNEXT/2022/010), parcialmente financiado por el MCIN con fondos NextGenerationEU de la Unión Europea (PRTR-C17.I1) y por la Generalitat Valenciana.

ESTUDIO DE LA CALIDAD ESPERMÁTICA EN MUESTRAS REFRIGERADAS DE CONEJO: EJEMPLO DE SINERGIA ENTRE PROYECTOS AGROALNEXT

Serrano-Jara D.^{1*}, Gacem S², Argente MJ¹, Silvestre MA² y García ML¹

1: Instituto CIAGRO-UMH, Ctra. Beniel km 3.2, 03312 Alicante, España.

2: Departamento de Biología Celular, Biología Funcional y Antropología Física, Universitat de València,
46100 Valencia, Spain.

*e-mail: d.serrano@umh.es

Palabras clave: calidad espermática, conejo, resiliencia.

Introducción

En la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH) se está llevando a cabo un experimento de selección divergente para la variabilidad del tamaño de la camada al nacimiento (V_e). Las líneas divergentes de baja (L) y alta (H) variabilidad se seleccionan para disminuir y aumentar la V_e respectivamente, y se ha demostrado que es una metodología para la mejora por resiliencia (Argente *et al.*, 2019). El proyecto AGROALNEXT/2022/037 tiene como uno de sus objetivos estudiar la respuesta correlacionada a la selección en la calidad espermática de los machos de estas líneas cuando están sometidos a condiciones de estrés térmico. Por otro lado, el proyecto AGROALNEXT/2022/063 se está desarrollando en la Universitat de València (UV) y tiene como objetivo general estudiar la evolución de diferentes parámetros espermáticos y el perfil proteico de los espermatozoides durante la conservación, así como su capacidad predictiva de la fertilidad (Gacem *et al.*, 2023). Ambos proyectos se ubican en el WP1: producción primaria sostenible. Transición ecológica. El programa AGROALNEXT potencia las sinergias entre los grupos participantes. Así, con la participación en el primer Workshop del 4 de mayo de 2023 se observó la posibilidad de complementar las capacidades de ambos proyectos y se decidió establecer objetivos en un marco de cooperación entre ambos proyectos.

El objetivo de esta colaboración es el estudio de la calidad espermática de las líneas seleccionadas divergentemente por V_e mediante diferentes sistemas CASA, citometría de flujo y proteómica. En este trabajo, presentamos los primeros resultados relativos al volumen de muestras y metodologías aplicadas.

Material y métodos

En la figura 1 se detalla el diseño experimental para aprovechar las sinergias entre ambos proyectos. Se utilizaron las líneas L y H en Junio-Julio (SET) sin estrés térmico y en Septiembre-Octubre (CET) con estrés térmico. Las muestras se recogían mediante vagina artificial atemperada a 45°C. Después de hacer una valoración macroscópica, en los eyaculados aptos se midió el volumen y el pH. Las muestras de semen se diluyeron con Tris-ácido cítrico-glucosa. Los parámetros de motilidad se evaluaron mediante microscopio de contraste de fases y un sistema de análisis de espermático asistido por ordenador (Sperm Class Analyzer, S.C.A., Microptic, Barcelona) con 50 frames/s. Los porcentajes de espermatozoides móviles totales (MT), velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL), velocidad de trayectoria promedio (VAP), índice de linealidad (LIN), rectitud (STR), amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza, (ALH) oscilación y frecuencia de batido (BCF) fueron evaluados. Además, se ha analizado la morfometría de la cabeza del espermatozoide midiendo la longitud, anchura, área, perímetro, elipticidad, elongación, rugosidad, regularidad,

porcentaje de acrosoma y porcentaje de acrosoma normal.

Las muestras fueron diluidas con diluyente para una concentración estándar de 25 millones/ml. Se obtuvieron 2 alícuotas que fueron refrigeradas a 4°C. Una alícuota se envió a la UV y la otra se quedó en la UMH. Después de 24 h, las muestras fueron de nuevo valoradas tanto en la UMH como en la UV. En la UMH se valoró de nuevo la motilidad y cinética de las muestras refrigeradas.

En la UV, se valoró la motilidad con un microscopio de contraste y un programa de inteligencia artificial a 120frames/s (AI station, Valencia, España). Se midió el porcentaje de MT, PROG, VCL, VSL, VAP, LIN y STR. Las variables de citometría estudiadas fueron la viabilidad, potencial de membrana y ROS mitocondriales y el estado del acrosoma. Las muestras se evaluaron en el Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental (SCSIE) con el citómetro de flujo BD LSRFortessa equipado con 5 láseres. Un mínimo de 10.000 espermatozoides se analizó para cada muestra. Para ello, se usó preparación fluorescente de DAPI/ Mitotracker Deep Red / MitoSox. Igualmente, también se evaluó la viabilidad y reacción acrosómica del espermatozoide mediante la tinción ISAS®3Fun. El estudio proteómico se hizo en la unidad de proteómica de la UV (miembro de la PRB2-ISCIH ProteoRed Proteomics Platform), usando el método SWATH-MS (Gacem *et al.*, 2023). Las muestras se han agrupado en pools entre diferentes animales y réplicas.

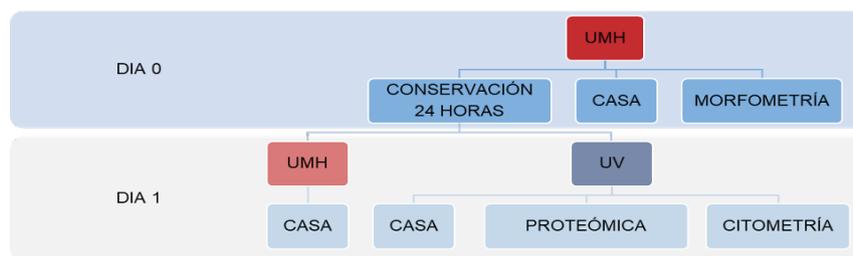


Figura 1. Diseño experimental

Resultados

Se han utilizado un total de 46 machos, 23 de la línea H y 23 de la línea L en la UMH y el número de muestras enviadas a la UV ha sido de 126 en un total de 8 envíos, 4 en los meses de Junio-Julio y 4 más en los meses de Septiembre-Octubre. La espermatogénesis en conejo tiene una duración aproximada de 1 mes. Las temperaturas y humedad relativa 1 mes antes de la toma de muestras fue de 17,5°C y 77,2% (SET) y de 27,3°C y 87,7% (CTE), respectivamente. De las 126 muestras enviadas se descartaron las muestras muy sucias o contaminadas. Al final se analizó 120 muestras para movilidad y citometría de flujo. Con las muestras se hicieron pools (20 muestras, 5 muestras por cada grupo H-SET; L-SET; H-CET y L-CET) para el análisis del proteoma. En la actualidad se están preparando las bases de datos para analizarlos con metodología bayesiana.

En conclusión, se ha establecido una colaboración entre proyectos AGROALNEXT que ha permitido su potenciación.

Referencias

Argente M.J., García M.L., Zbynovska M., Petruska P., Capcarova M., Blasco A. 2019. Correlated response to selection for litter size environmental variability in rabbits' resilience. *Animal* 13: 2348 - 2355.

Gacem S., Castello-Ruiz M., Hidalgo C.O., Tamargo C., Santolaria P., Soler C., Yániz J.L., Silvestre M.A., 2023. Bull Sperm SWATH-MS-Based Proteomics Reveals Link between High Fertility and Energy Production, Motility Structures, and Sperm–Oocyte Interaction. *J. Proteome Res.* 22, 3607–3624.

Agradecimientos

Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT/2022/037 y AGROALNEXT/2022/063 y ha sido financiado por MCIN con fondos de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y por la GVA.

LA APLICACIÓN EXÓGENA DE PROLINA ENCAPSULADA AUMENTA LA TOLERANCIA DE ARABIDOPSIS A LAS ALTAS TEMPERATURAS

Vanessa A. Avendaño ^{1,2}, Jimmy Sampedro-Guerrero ^{1,2}, Andrea Dalmau-Balaguer ¹, Carolina Clausell-Terol ², Aurelio Gómez-Cadenas ^{1,*}.

1: Departamento de Biología, Bioquímica y Ciencias Naturales, Universitat Jaume I, 12071 Castellón de la Plana, Spain

*autor de correspondencia: aurelio.gomez@uji.es

2: Departamento de Ingeniería Química, Instituto Universitario de Tecnología Cerámica, Universitat Jaume I, 12071 Castellón de la Plana, Spain

palabras clave: adaptación vegetal, fitohormonas, osmolitos, quitosano, sílice

Introducción y objetivo

Las plantas se encuentran permanentemente sujetas a estreses abióticos y bióticos, por lo que han desarrollado mecanismos adaptativos complejos. Los estreses abióticos, tales como, la sequía, la salinidad y las temperaturas extremas, son las causas principales de la disminución de la producción agrícola a nivel mundial, y se prevé que su incidencia aumente debido al cambio climático. En concreto, el estrés por calor perturba el equilibrio celular, obstaculiza el crecimiento y desarrollo vegetal, y conduce a la esterilidad y disminución del rendimiento.

En condiciones de estrés por calor, las plantas exhiben numerosos mecanismos de defensa, destacando el aumento de la síntesis de proteínas de choque térmico y la síntesis de fitohormonas, así como la producción de varios metabolitos que actúan como osmoprotectores. Cuando las plantas se someten a estrés térmico, se produce la síntesis de prolina por inducción de la pirrolina-5-carboxilato sintasa (P5CS), lo que conduce a la acumulación subsiguiente de este aminoácido, mejorando la tolerancia de las plantas y mitigando el daño oxidativo.

Los efectos beneficiosos de la prolina se pueden potenciar mediante técnicas de liberación retardada. En estudios realizados por el Grupo de Ecofisiología y Biotecnología de la Universitat Jaume I, se demostró que es posible potenciar el efecto protector de varios fitoreguladores mediante su encapsulación y liberación controlada [1]. El objetivo principal de este trabajo consiste en desarrollar nuevas formulaciones de prolina encapsulada con diferentes materiales de recubrimiento para aumentar la tolerancia de las plantas de Arabidopsis al estrés por calor.

Material y métodos

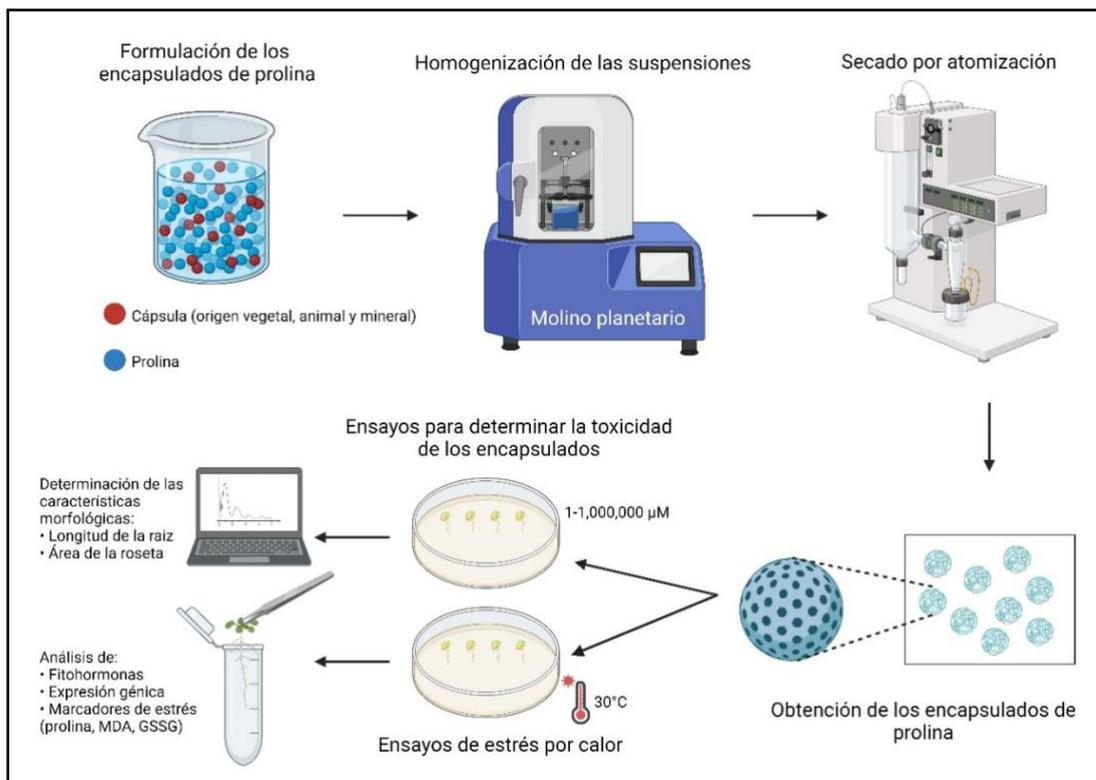


Figura 1. Metodología general empleada.

Resultados y conclusión

Nuestros resultados revelan que concentraciones de prolina libre superiores a 1mM tienen un efecto tóxico en las plantas tratadas. Sin embargo, las plantas tratadas con prolina encapsulada a estas concentraciones muestran síntomas de toxicidad mucho menores. La encapsulación permite una liberación controlada y prolongada en el tiempo, reduciendo la concentración de prolina disponible en el medio.

Una vez definida la concentración óptima para trabajar con los encapsulados, se procedió a someter plantas de *Arabidopsis* a estrés por calor. Se observó que aquellas que crecieron en medios con prolina encapsulada presentaron una mayor tolerancia al estrés. El análisis morfológico mostró que las plantas tratadas con el encapsulado tenían una mayor longitud de raíz y un mayor tamaño de roseta.

La ausencia de cambios morfológicos extremos observados está relacionada con un menor desequilibrio entre el ácido salicílico (SA) y el ácido indolacético (IAA). Además, las plantas tratadas con prolina encapsulada mostraron una expresión controlada de los principales genes implicados en la ruta de biosíntesis de la prolina (PCR y P5CS1) y una baja expresión de los genes transportadores de la misma (ProT1, ProT2 y ProT3), lo que sugiere un equilibrio entre la acumulación y el catabolismo de la prolina.

De igual manera, en la ruta de desintoxicación de la planta, se observa una sobreexpresión de dos genes implicados en el ciclo Ascorbato-Glutatión (MDHAR1 y DHAR2), en las plantas control y en las plantas tratadas con la prolina encapsulada, a diferencia de las plantas tratadas con prolina libre, donde se observa la supresión de la expresión de dichos genes, lo que sugiere que la planta no puede eliminar eficazmente el peróxido de hidrógeno.

Referencias

- [1] J. Sampedro-Guerrero, V. Vives-Peris, A. Gomez-Cadenas, C. Clausell-Terol, Improvement of salicylic acid biological effect through its encapsulation with silica or chitosan, *Int. J. Biol. Macromol.* 199 (2022) 108–120. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.124>.

Agradecimientos

Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT (AGROALNEXT/2022/010), parcialmente financiado por el MCIN con fondos NextGenerationEU de la Unión Europea (PRTR-C17.I1) y por la Generalitat Valenciana.

MODULACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ENRAIZAMIENTO EN RESPUESTA A ESTRÉS ABIÓTICO

Adrián Luque¹, María Salud Justamante¹, Pedro Luis Rodríguez Egea² y José Manuel Pérez-Pérez^{1*}

1: Instituto de Bioingeniería, Universidad Miguel Hernández de Elche, Avda. de la Universidad s/n, 03202 Elche, Alicante. 2: Instituto Universitario Mixto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Universitat Politècnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Valencia.
e-mail: aluque@umh.es

Palabras clave

Caracterización fenotípica, sistema radicular, *Arabidopsis thaliana*, ácido abscísico.

Introducción y objetivo

El cambio climático está provocando condiciones desfavorables para los cultivos debido a problemas con la salinización del suelo, el aumento de las temperaturas, la sequía o la falta de nutrientes debido a la explotación masiva del suelo. Ello implica la búsqueda de estrategias para mitigar esas condiciones desfavorables a través del estudio de las rutas metabólicas y así poder comprender mejor los mecanismos que se encargan de las respuestas adaptativas de las plantas en respuesta a estos estreses.

El objetivo de este trabajo es la implementación de un sistema de caracterización fenotípica para la cuantificación a corto plazo de la respuesta de enraizamiento a distintos estreses en la crucífera modelo *Arabidopsis thaliana*. Ese sistema se ha empleado para el estudio del enraizamiento en la estirpe silvestre Columbia-0 (Col-0) en respuesta a estrés por sequía y salinidad, así como en presencia de inhibidores selectivos del receptor de ácido abscísico (ABA) [1]. Se ha utilizado también para el estudio de la respuesta de enraizamiento a estrés por salinidad y falta de nutrientes en distintos mutantes de *A. thaliana* implicados en esta respuesta [2].

Material y métodos

Para la estandarización del sistema que hemos utilizado, se han usado semillas del genotipo silvestre Col-0, las cuales se han esterilizado y estratificado durante 2 días. Una vez completado el periodo de estratificación, se han sembrado en placas Petri cuadradas con medio de cultivo GM y se han incubado en vertical durante 5 días en una cámara de cultivo con luz continua. Tras ese periodo, se han transferido 10 plántulas a placas Petri redondas con los siguientes tipos de estreses: ABA (2 μ M), manitol (60 o 100 mM), NaCl (60 o 100 mM) y polietilenglicol (PEG) (4 o 5%). Tras tres días se escinde el meristemo de la raíz principal (PR) para inducir la formación de raíces laterales (LR). A los 4 días tras el primer corte, se secciona el sistema radicular completo para inducir la formación de raíces adventicias (AR).

Para el estudio de los compuestos agonistas de ABA se utilizó el mismo diseño experimental, pero en el momento de paso a estreses se usan los siguientes medios en base a los resultados previos: 100 mM manitol, 100 mM NaCl, y 4% PEG. Estos estreses se combinaron con los compuestos iSB09 (1 o 10 μ M) y HB (1 o 10 μ M).

Para el estudio de las líneas mutantes *ipt3*, *lox1* y *wee1*, una vez esterilizadas y estratificadas las semillas, se incubaron en la cámara de cultivo. A los 6 días se transfirieron 13-15 plántulas a placas Petri cuadradas. A los 7 días de transferirlas a las placas con los estreses, se seccionó el sistema radicular completo para inducir la formación de raíces adventicias.

La toma de datos como la longitud y crecimiento de la PR y la longitud de las LR, entre otros, se realiza a través de imágenes obtenidas con un escáner fotográfico y posteriormente procesadas con el

complemento Fiji ImageJ. Mientras que el número de LR y AR se determinó de forma visual utilizando un estereomicroscopio.

Resultados y conclusión

Este trabajo se basa en tres grupos de ensayos: (1) estandarización de un sistema de caracterización fenotípica en respuesta a estrés simulado, (2) estudio de la respuesta de las plantas tratadas con los compuestos agonistas de ABA (iSB09 y HB) en condiciones de estrés simulado y (3) la implicación de diversos genes en respuesta a estrés.

- 1) Estandarización de un sistema de caracterización fenotípica.
 - Los estreses producen una disminución en el crecimiento de la PR, interfieren en la producción de LR, así como en su longitud, y una disminución en el número de AR.
 - Las condiciones de estreses abióticos adecuadas para observar cambios en el fenotipado radicular fueron 100 mM de NaCl, 100 mM de manitol y 4% PEG.
- 2) Estudio de los agonistas de ABA.
 - Los compuestos iSB09 y HB no son capaces de paliar la disminución del crecimiento de la PR.
 - HB a ambas concentraciones es capaz de disminuir el efecto que provoca el 4% de PEG en la nueva formación de LR (Figura 1A).
- 3) Estudio de genes implicados en respuesta a estreses.
 - En condiciones de falta de nutrientes *wee1* es capaz de producir un mayor crecimiento de la PR, mientras que en *ipt3* se produce una disminución significativa (Figura 1B).
 - Tanto los mutantes como el genotipo silvestre inducen una mayor producción de LR en ausencia de nutrientes, mientras que en *lox1* generan menos LR.
 - En los mutantes *ipt3* sometidos a estrés salino, la longitud de LR es superior a su control y a su vez superior a Col-0 en presencia de sal (Figura 1B).

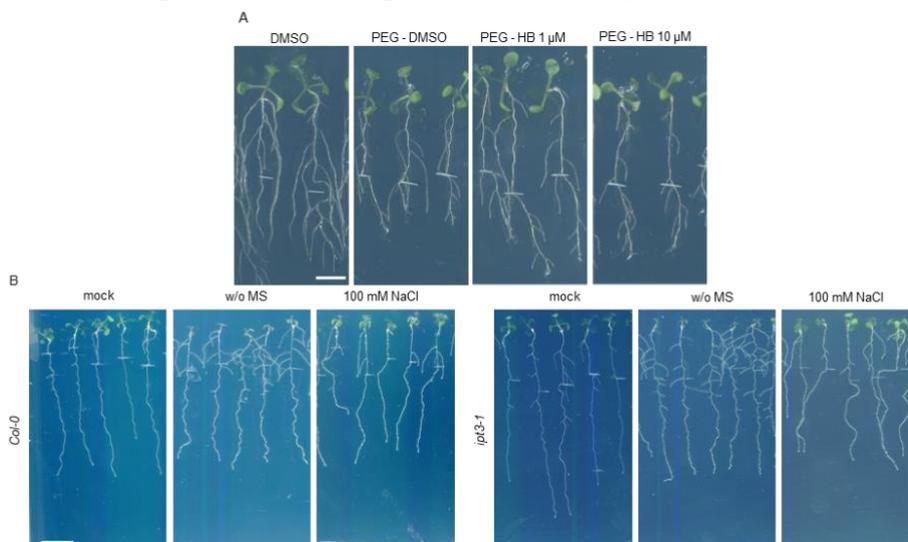


Figura 1: (A) Imágenes representativas de la combinación de compuestos a los 4 días después de la escisión en las condiciones ensayadas. Barra de escala: 5 mm. (B) Imágenes representativas de las líneas estudiadas a los 7 días después del tratamiento en las condiciones analizadas. Barra de escala: 10 mm.

Referencias

- [1] Lozano-Juste et al. (2023). *Science Advances* 9: eade9948.
- [2] Justamante et al. (2024). Artículo en evaluación.

Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado gracias a la financiación de los proyectos AGROALNEXT2021/036 y TED2021-132256B-C22 así como gracias al aporte del material vegetal proporcionado por Tatsuo Kakimoto (Universidad de Osaka, Japón), Lieven De Veylder (Universidad de Ghent, Bélgica), y Carmen Castresana (CNB-CSIC, Madrid).

DESARROLLO Y SELECCIÓN DE PORTAINJERTOS PARA LA TOMATA VALENCIANA

**María del Rosario Figàs Moreno, Cristina Casanova Calancha, Elena Soler Calabuig,
Miquel Martínez Busó, Jaime Prohens Tomás, Salvador Soler Aleixandre**

Grup de Conservació i Millora de Varietats Tradicionals Valencianes, Institut de Conservació i
Millora de l'Agrodiversitat Valenciana, Universitat Politècnica de València.
Camí de Vera 14, 46022 València.
e-mail: mfimo@upvnet.upv.es

Palabras clave: germoplasma, tomate, variedades tradicionales

Introducción y objetivo

La 'Tomata Valenciana' es una variedad tradicional valenciana con excepcionales características de calidad organoléptica. Sin embargo, la productividad de la 'Tomata Valenciana' se ve afectada por la incidencia de enfermedades. En casi todas las campañas es importante la incidencia de virosis como la causada por el virus del mosaico del tomate (*Tomato mosaic virus*, ToMV), hongos como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) y nematodos del género *Meloidogyne* (Soler et al., 2010). Es crucial, en este sentido, disponer por parte de los agricultores de portainjertos variedades de 'Tomata Valenciana' mejoradas para resistencia a estas enfermedades. El trabajo que se presenta persigue el objetivo de desarrollar patrones portainjertos para su utilización en la 'Tomata Valenciana'. En concreto portainjertos que muestren un alto nivel de resistencia a FOL y nematodos. Para esto, y en colaboración con la "Associació de Productors i Comercialitzadors de la Tomata Valenciana" (APCTV), se ha llevado a cabo un ensayo de selección de portainjertos desarrollados por los autores.

Material y métodos

Se utilizaron tres híbridos experimentales de tomate que con anterioridad mostraron comportamiento superior en cultivo ecológico a los portainjertos comerciales. Dos híbridos proceden de cruces interespecíficos (tomate 'De Penjar' (BT02220) x *S. pimpinellifolium* (BT00230)), y (variedad local italiana (BT10170) x *S. habrochaites* (BT00120)) y otro es un híbrido intraespecífico ('Tomata Valenciana' (BT04060) y tomate 'De Penjar' (BT02310)). También se evaluaron los 3 híbridos posibles entre las accesiones (*S. pimpinellifolium* (BT00230), *S. habrochaites* (BT00120) y *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (BT00250)) seleccionadas por vigor y tolerancia a enfermedades del suelo. También se evaluó la línea de mejora SOL.11.2 portadora de los genes *Tm2²*, *I2* y *Mi*.

En un invernadero (cultivo ecológico) de la localidad de Borbotó (València) con una incidencia elevada de FOL y nematodos se probaron 18 plantas de cada uno de los híbridos (9) y sus parentales distribuidas al azar en 6 bloques (Tabla 1). Se incluyeron como controles las entradas SL-Meliana-1 ('Tomata Valenciana' tipo "Masclet") y SL-Meliana-2 ('Tomata Valenciana' tipo "Blanca"), así como los controles comerciales 'Olympe-F1' y la variedad 'Moneymaker'. En cada una de las plantas se evaluó, incidencia de *Fusarium* e incidencia de afectación de nemátodos a 30, 60 y 90 días después de trasplante (DDT). También se evaluó el ángulo del bulbo radicular raíz, el diámetro de la raíz principal y la densidad de barbada a los 90 DDT.

Resultados y discusión

Es de destacar la elevada incidencia de FOL en los materiales de ‘Tomata Valenciana’ BT04060 (50 %), pero sobre todo en las entradas SL-Meliana-1 (88,89 %) y SL-Meliana-3 (72,22 %). En los demás materiales se produjo una incidencia variable desde 0,0 % de la entrada BT00120 y los híbridos SOL.11.2 x BT00120 y SOL.11.2 x BT00230 hasta el 72,22 % de la entrada BT00250. Estos datos sugieren una incidencia elevada en la parcela de cultivo y por tanto permiten extraer conclusiones sobre las características de los híbridos portainjertos desarrollados. En este sentido, los mejores híbridos serían el SOL.11.2 x BT00120 y SOL.11.2 x BT00230. En cuanto a la incidencia de nematodos fue elevada tanto en el control BT04060 (50 %), como en las entradas SL-Meliana-1 (100 %) y SL-Meliana-3 (100 %). También aquí el mejor comportamiento correspondió a los híbridos SOL.11.2 x BT00120 y SOL.11.2 x BT00230 y al híbrido ‘Olympe’.

Tabla 1. Evaluación de 9 híbridos, los 8 parentales y 4 controles en un suelo con elevada incidencia de FOL y nematodos.

ENTRADA	Porcentaje de plantas afectadas por FOL	Porcentaje de plantas afectadas por nematodos
BT00120	0,00	88,24
BT00230	60,00	83,33
BT00250	72,22	100,00
BT02220	37,50	100,00
BT02310	38,46	84,62
BT10170	44,44	94,12
BT04060	50,00	50,00
SOL.11.2	46,15	7,69
BT00230 X BT00120	12,50	100,00
BT00250 X BT00120	50,00	100,00
BT00250 X BT00230	61,11	100,00
SOL.11.2 X BT00120	0,00	6,25
SOL.11.2 X BT00230	0,00	0,00
SOL.11.2 x BT00250	17,65	41,18
BT02310 X BT04060	44,44	100,00
BT10170 X BT00120	17,65	100,00
BT02220 X BT00230	52,94	100,00
SL-Meliana-1	88,89	100,00
SL-Meliana-3	72,22	100,00
MONEY MAKER	44,44	100,00
OLYMPE F1	44,44	5,56

Conclusiones

Los híbridos SOL.11.2 x BT00120 y SOL.11.2 x BT00230 muestran las mejores aptitudes para ser utilizados como portainjertos de la ‘Tomata Valenciana’, ya que muestran las mejores combinaciones de resistencia a FOL, nematodos y por características de vigor y de sistema radicular.

Agradecimientos

Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT y está respaldado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (MCIN) con financiación de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y la Generalitat Valenciana.

Referencias

Soler S., Prohens J., López C., Aramburu J., Galipienso L., Nuez F. 2010. Viruses infecting tomato in Valencia, Spain: occurrence, distribution and effect of seed origin. *Journal of Phytopathology*, 158: 797-805.

BUSCANDO BIOMARCADORES DE FERTILIDAD: CORRELACIÓN ENTRE MOVILIDAD Y LA PROTEÍNA AKAP4 EN ESPERMATOZOIDES DE TORO

Sabrina Gacem^{1,2}, María Castello-Ruiz¹, Carlos O. Hidalgo³, Carolina Tamargo³, Pilar Santolaria⁴, Jesús L. Yániz⁴ y Miguel A. Silvestre¹

1: Departamento de Biología Celular, Biología Funcional y Antropología Física, Universitat de València, 46100 Valencia.

E-mail: miguel.silvestre@uv.es

2: Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Barcelona.

3: Genética y Reproducción Animal, Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), 33394 Deva, Gijón.

4: BIOFITER; Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Universidad de Zaragoza, 22071 Huesca.

Palabras clave: calidad espermática, biomarcadores, vacuno, movilidad.

Introducción

La fertilidad es uno de los parámetros más importantes que afecta a la productividad de las explotaciones ganaderas. La fertilidad es un proceso complejo que debe estudiarse tanto desde el punto de vista de la hembra como del macho. Hasta la fecha, los análisis convencionales no han conseguido diferenciar claramente el potencial fértil de las muestras seminales. El uso de biomarcadores que puedan detectar precozmente posibles casos de infertilidad y subfertilidad es de vital importancia, evitando así importantes pérdidas económicas en las explotaciones. En este sentido, la proteína AKAP4 (A-kinase anchor protein 4) es uno de los biomarcadores proteicos más utilizados. La AKAP4 desempeña un papel en el mantenimiento de la integridad de la vaina fibrosa del espermatozoide y la motilidad espermática normal. En ratones que no presentaban AKAP4, se encontró que los espermatozoides tenían flagelos acortados, doblados, enrollados y diámetro reducido en la pieza principal. Como resultado, la motilidad espermática disminuyó y los machos fueron estériles. Por otro lado, numerosos trabajos han relacionado una mayor movilidad con una mayor concentración del precursor de dicha proteína (ProAKAP4). El objetivo de este trabajo consistió en estudiar la correlación entre los parámetros de movilidad y cinética espermática y la proteína AKAP4 en espermatozoides de toro.

Material y métodos

Se han usado dosis congeladas de 10 toros de la raza Friesian Holstein de un Centro Inseminación Artificial (Gijón, España). Tras descongelar las dosis, la motilidad se evaluó con microscopio de contraste de fases con placa termostata y un sistema de análisis de espermatozoide asistido por ordenador (ISAS, Proiser, Valencia, España) con el módulo para la especie vacuna a 50 fotogramas/s. Los valores de espermatozoides móviles totales (TM) y progresivos (PM), velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL), velocidad de trayectoria promedio (VAP), índice de linealidad (LIN), rectitud (STR), amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza, (ALH) oscilación y frecuencia de batido (BCF) fueron evaluados. El contenido de la proteína

AKAP se evaluó en la unidad de proteómica de la Universitat de València, usando el método SWATH-MS. Las relaciones entre los parámetros estudiados, tanto sus valores brutos como transformados, se analizaron mediante correlaciones bivariadas (coeficiente Pearson) con el software SPSS para un nivel de significación de $P < 0,05$.

Resultados y conclusión

La tabla 1 muestra la correlación entre los parámetros espermáticos y la cantidad de proteína AKAP4 evaluada por SWATH-MS. No se encontró una correlación significativa entre ningún parámetro de movilidad o cinética y la proteína AKAP4, salvo para el parámetro BCF, que se encontró una correlación negativa. Hay pocos trabajos que relacionen directamente la proteína AKAP4 con la movilidad. La mayoría de los estudios publicados se hicieron usando un kit Elisa para evaluar la presencia del precursor de dicha proteína (ProAKAP4) que está presente de la misma manera que la proteína AKAP4 en la estructura del espermatozoide. Y en la gran mayoría de ellos, se observa una relación positiva entre la movilidad y el contenido de proAKAP4 en diferentes especies. Sin embargo, en concordancia con nuestros resultados, otros autores no encontraron correlaciones significativas entre la movilidad y la proteína o su precursor. Bastan y Akcay (2021) no encontraron correlación significativa entre los parámetros cinéticos y la proteína ProAKAP4 a 0h tras de la descongelación, solamente 3h después de una prueba de resistencia térmica. En la misma línea, otro estudio tampoco encontró ninguna correlación con la movilidad o los parámetros cinéticos en espermatozoides de ratón (Boersma et al., 2022). Respecto a la cuantificación de la proteína por análisis proteómico, se ha observado una mayor expresión de la AKAP4 estimada por LC-MS/MS en muestras seminales de toros con baja fertilidad. Por lo tanto, es necesario seguir investigando y buscando biomarcadores que nos ayuden a descartar muestras seminales de baja fertilidad.

	TM	PM	VCL	VSL	VAP	LIN	STR	ALH	BCF
Correlación de Pearson	-0,344	-0,407	-0,627	-0,531	-0,594	-0,315	-0,238	-0,531	-,664*
Sig. (bilateral)	0,331	0,244	0,052	0,114	0,070	0,375	0,509	0,115	0,036

Tabla 1: Correlación bivariada entre la proteína AKAP4 y los valores de movilidad total (TM) y progresividad (PM), velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL), velocidad de trayectoria promedio (VAP), índice de linealidad (LIN), rectitud (STR), amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza, (ALH) oscilación y frecuencia de batido (BCF) de espermatozoides de toro. El asterisco muestra las correlaciones significativas ($P < 0,05$).

Referencias

Bastan, I., Akcay, E., 2021. Quality assessment of frozen bull semen with the precursor A-kinase anchor protein 4 biomarker. *Andrologia* 53.
 Boersma, A., Primus, J., Wagner, B., Broukal, V., Andersen, L., Pachner, B., Dahlhoff, M., Rüllicke, T., Auer, K.E., 2022. Influence of sperm cryopreservation on sperm motility and proAKAP4 concentration in mice. *Reprod Med Biol* 21, 1–12.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por MCIN con fondos de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y por la Generalitat Valenciana (AGROALNEXT2022/063).

LA INCLUSIÓN DE HASTA EL 15 % DE ORUJO BLANCO EN LA RACIÓN DE GANADO CAPRINO MANTIENE EL pH, COLOR, Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA LECHE

Marina Gálvez-López^{1*}, Manuel Viuda-Martos¹, Mihaela Iasmina Madalina Ilea¹, José Ramón Díaz¹ y Gema Romero¹

1: Instituto de Investigación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Universidad Miguel Hernández de Elche. Ctra. De Beniel, km 3.2, 03312 Orihuela (Alicante).
e-mail: marinagalvezl@umh.es

Palabras clave: economía circular, subproducto, WI, YI, FRAP

Introducción y objetivo

Dentro de la estrategia de ODS 2030, la valorización de subproductos y la reducción de insumos para la producción de alimentos de alto valor biológico es una prioridad. El orujo de uva es un subproducto con propiedades interesantes para la alimentación del ganado rumiante. El objetivo de este experimento fue estudiar el efecto de la inclusión de diferentes proporciones del subproducto orujo de uva blanca de vinificación en la dieta del ganado caprino sobre las características de la leche: pH, color y actividad antioxidante mediante el método del poder reductor del ion férrico (FRAP).

Materiales y métodos

Se desarrolló un experimento en el que se testó la inclusión de orujo de uva blanca de vinificación en la dieta del ganado caprino en las siguientes proporciones: 5, 10, 15% MS de la dieta. Las dietas fueron isoenergéticas e isoproteicas y se compararon con una dieta testigo convencional que incluía heno de alfalfa y pienso compuesto concentrado (0% subproducto). Se seleccionaron 80 cabras que se dividieron en 8 grupos de 10 animales cada uno (4 tratamientos x 2 lotes) de características fisiológicas homogéneas. Se realizó un muestreo pre-experimental (semana 8 de lactación) y tras 2 semanas de adaptación a los tratamientos se realizaron 4 muestreos experimentales de frecuencia quincenal (semanas 10, 12, 14 y 16 de lactación). Para cada tratamiento y muestreo se recogieron 2 muestras (1 de cada lote) a las que se analizaron por duplicado las variables: a*, b*, c*, h*, L*, WI, YI, para el color (Minolta CM-700, Minolta, Osaka, Japon), pH (Mod. pH/Ion 510, Eutech Instruments Pte Ltd., Singapur), y actividad antioxidante mediante el método FRAP (Oyaizu, 1986) expresado en µg de Trolox equivalente/mL de leche. Se determinó el efecto del tratamiento a lo largo del experimento mediante un modelo lineal general (Proc. Glim, SAS v9.4), considerando el muestreo (5 niveles: pre-experimental y 4 experimentales), 4 tratamientos y la interacción entre ambos.

Resultados y discusión

En la tabla 1 y figura 1 se muestran los resultados obtenidos. Aunque fueron significativos los efectos considerados en la mayoría de las variables estudiadas (exceptuando el muestreo y la interacción del tratamiento con el muestreo en WI y L*), las diferencias observadas no se pueden considerar relevantes desde el punto de vista tecnológico de la leche.

Tabla 1. Resultados del análisis estadístico de las variables estudiadas

VARIABLE	MUESTREO		TRATAMIENTO		TRATAMIENTO *MUESTREO		MODELO	
	F	P	F	P	F	P	F	P
WI	2,57	0,0567	10,48	<0,0001	1,14	0,3343	3,33	<0,0001
YI	23,7	<0,0001	21,19	<0,0001	2,93	0,0012	10,06	<0,0001
L*	1,20	0,31	8,97	<0,0001	1,31	0,2212	2,90	0,0002
a*	10,94	<0,0001	39,84	<0,0001	2,47	0,0059	11,67	<0,0001
b*	21,98	<0,0001	19,75	<0,0001	2,98	0,0010	9,51	<0,0001
C*	21,77	<0,0001	19,31	<0,0001	3,02	0,0009	9,41	<0,0001
h*	16,37	<0,0001	31,06	<0,0001	2,86	0,0015	10,93	<0,0001
pH	10,01	<0,0001	8,43	<0,0001	2,35	0,0151	4,84	<0,0001
FRAP (ug/mL)	97,36	<0,0001	19,32	<0,0001	11,20	<0,0001	26,60	<0,0001

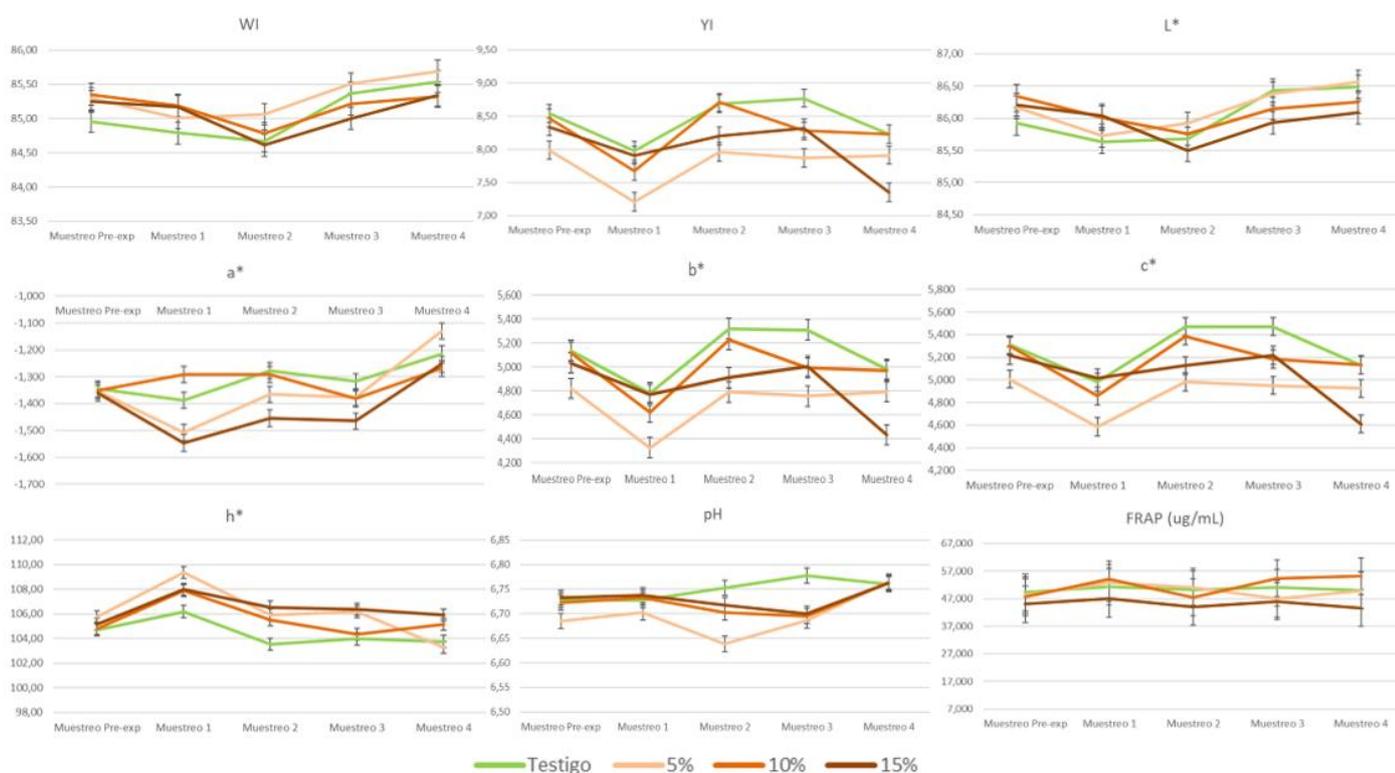


Figura 1. Efecto del tratamiento a lo largo del experimento en las variables estudiadas (lsmeans \pm SE)

Se concluye que la inclusión del subproducto orujo de uva blanca de vinificación en la dieta de caprino lechero hasta un 15% de materia seca es una materia prima de bajo coste a considerar en la formulación de dietas de estos animales. Este estudio se completará con un experimento durante una lactación completa, para comprobar los efectos a largo plazo.

Agradecimientos

El estudio forma parte del proyecto AGROALNEXT subvencionado por MCIN con fondos de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y la Generalitat Valenciana.

EVALUACIÓN DE LA TOLERANCIA A LA SEQUÍA EN CULTIVOS PROMISORIOS: ESTUDIO DEL IMPACTO FISIOLÓGICO DEL ESTRÉS EN DOS ESPECIES DEL PSEUDOCEREAL AMARANTO

Francisco B. Flores^{1*}, Isabel Egea¹, Clemente Moya¹, José María Egea-Fernández² y José María Egea¹

¹Grupo de Estrés Abiótico, CEBAS-CSIC, Edif. 25, Campus de Espinardo, 30100 Espinardo-Murcia

²Grupo de Botánica, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, Edif. 5, Campus de Espinardo, 30100 Espinardo-Murcia

e-mail: jmegea@cebas.csic.es

Palabras clave: *Amaranthus caudatus*; *Amaranthus hypochondriacus*; cultivo en campo abierto; sequía; fisiología de la planta en estrés hídrico.

Introducción y objetivo:

Con el objetivo de identificar cultivos promisorios foráneos con la capacidad de soportar las severas condiciones de sequía propias del Sudeste español, que se prevén se intensificarán por efecto del cambio climático, se ha llevado a cabo un estudio para evaluar la tolerancia a déficit hídrico de dos especies del pseudocereal amaranto. Estas dos especies son *Amaranthus hypochondriacus* (var. Burganda, **Bur**, **fig. 1A**) y *A. caudatus* (var. Kwicha Perú, **k1**, **fig. 1B**), seleccionadas por estudios previos del laboratorio y por información proporcionada por otras fincas experimentales que participan en trabajos de la Red de Agroecología y Ecodesarrollo de la Región de Murcia (RAERM) (Egea-Fernández *et al.*, 2015).

Material y métodos:

Las semillas, proporcionadas por la RAERM, se germinaron en placa Petri en oscuridad a 28°C y 90% HR, y se transfirieron a semillero con turba y perlita (8:3) en condiciones controladas de cámara de cultivo según Estrada *et al.* (2021). Tras tres semanas se llevó a cabo el trasplante a suelo en una parcela de la finca experimental del CEBAS sita en el municipio de Santomera (Murcia, 38,105°N; 1,035°W). Se dispusieron 4 filas con un marco de cultivo 2 x 2 m; 10 plantas de una especie y de otra alternadas en la fila. Se mantuvieron todas las plantas con un régimen de riego que se fue aumentando durante un mes desde 0,40 L día⁻¹ hasta 0,50 L día⁻¹, según crecimiento (**fig. 1C**). Tras dicho intervalo de tiempo, en dos filas se impuso el estrés hídrico por cese del riego (tratamiento de sequía), mientras en las otras dos se siguió aumentando gradualmente el riego hasta 0,75 L día⁻¹ (tratamiento de riego). Para verificar efectivamente tenía lugar el déficit hídrico se monitorizó el contenido en agua del suelo mediante un sensor de humedad del suelo (TEROS-12, Meter Group). A partir de 10 días desde el inicio del tratamiento de sequía se llevó a cabo el seguimiento de la fisiología de las plantas en riego vs sequía. Los parámetros que se midieron son: contenido en agua hoja; contenido en clorofilas (SPAD); temperatura de la hoja por termografía IR, y medidas de intercambio gaseoso y fotosíntesis con un equipo portátil LICOR modelo LI-6800 (LI-COR Biosciences) (Estrada *et al.*, 2021). Los resultados que se presentan son tras 60 días de tratamiento.

Resultados y conclusión:

Se han detectado diferencias significativas entre genotipos (**k1** vs **Bur**) pero no entre tratamientos (riego vs sequía), tal y como indica el PCA-Biplot de los resultados del LICOR (**fig. 1D**), lo que parece indicar que ambas especies están bien adaptadas a la sequía. Con todo, **Bur** parece presentar ligeros síntomas fisiológicos de sensibilidad a la sequía (disminución cont. agua hoja) pero todo lo contrario ocurre con su desarrollo (la mayor altura corresponde a esta especie en tratamiento de sequía) (**Tabla 1**).

Referencias:

- Estrada et al. (2021) Unraveling the strategies used by the underexploited amaranth species to confront salt stress: similarities and differences with quinoa species. *Front. Plant Sci.* 12:604481. doi: 10.3389/fpls.2021.604481
- Egea-Fernandez, J. M., Egea, Jose., M., Egea, I., and Rivera, D. (2015). "Recursos fitogenéticos", en: *Cultivos promisorios para enfriar el clima y alimentar al mundo. una propuesta agroecológica para tierra de iberos*. Ed. Integral, Sociedad para el Desarrollo Rural, 13–24, Murcia (Spain) ISBN: 978-84-608-3897-5

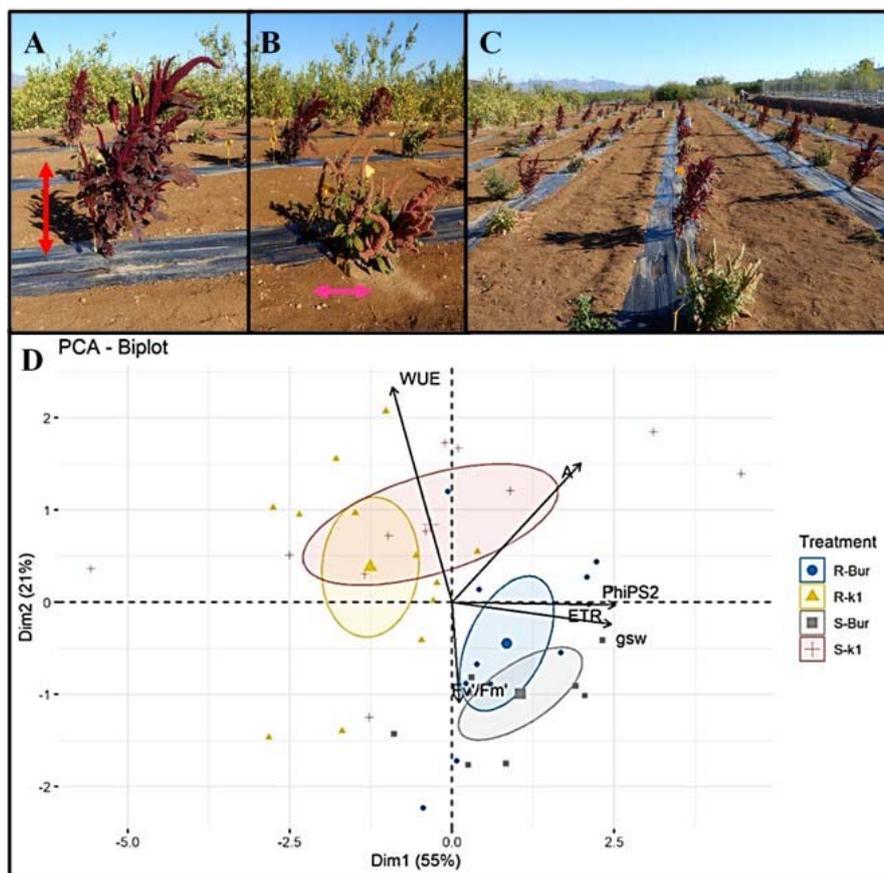


Figura 1. (A) *Amaranthus hypochondriacus* var. Burganda (**Bur**); (B) *Amaranthus caudatus* var. Kwicha Perú (**k1**); (C) Vista general de la parcela de cultivo, y (D) PCA-Biplot obtenido por MANOVA de los resultados de las medidas con el equipo portátil medidor de fotosíntesis LICOR LI-6800, tras 60 días de tratamiento de estrés hídrico (sequía, S) en las dos especies de amaranto, comparando con el tratamiento de riego de referencia (riego, R). Escalas: 36 cm (rojo) y 23 cm (rosa). WUE: uso eficiente del agua; A: tasa de fotosíntesis; PhiPS2: eficiencia PSII; gsw: conductancia estomática; Fv/Fm: eficiencia máxima PSII; ETR: tasa transporte de e- relativa.

Tabla 1. Resultados ambientales, de crecimiento y fisiológicos: efectos de 60 días de tratamiento estrés hídrico (sequía, S) en las dos especies de amaranto (*A. hypochondriacus* var. Burganda y *A. caudatus* var. Kwicha Perú), comparando con el tratamiento de riego de referencia (riego, R). Resultados como media \pm ES aplicando ANOVA y Test de Tukey ($p < 0,05$)

PARÁMETRO	<i>A. hypochondriacus</i> var. Burganda, trat. Riego (R)	<i>A. hypochondriacus</i> var. Burganda, trat. Sequía (S)	<i>A. caudatus</i> var. Kwicha Perú, trat. Riego (R)	<i>A. caudatus</i> var. Kwicha Perú, trat. Sequía (S)
Contenido agua suelo ($m^3 m^{-3}$)	0,249 \pm 0,006a	0,144 \pm 0,011b	0,249 \pm 0,006a	0,154 \pm 0,015b
Altura planta (cm)	92,56 \pm 4,15b	103,83 \pm 2,97a	90,90 \pm 1,34c	91,26 \pm 1,82c
SPAD	45,46 \pm 0,88a	39,90 \pm 1,44b	40,82 \pm 0,66b	39,69 \pm 0,61b
Temp. hoja ($^{\circ}C$)	15,43 \pm 0,08bc	15,88 \pm 0,09ab	15,21 \pm 0,11c	15,97 \pm 0,09a
Cont. agua hoja ($gr H_2O g^{-1} PS$)	4,10 \pm 0,09ab	3,59 \pm 0,21b	4,42 \pm 0,15a	4,36 \pm 0,17a

Agradecimientos: Este trabajo de investigación ha sido financiado por el programa del Plan Complementario de I+D+i en Agroalimentación AGROALNEXT.

DESARROLLO DE BIOPESTICIDAS INNOVADORES CONTRA ENFERMEDADES FUNGICAS DE LA VID

Lucía González Bermúdez^{1*}, Serena Medaglia¹, David Gramaje², Josep Armengol³, María Dolores Marcos¹, Andrea Bernardos Bau¹ y Ramón Martínez Mañez¹

1: Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM), Universitat Politècnica de València, Camino de Vera S/n, 46022-Valencia, Spain; CIBER de Bioingeniería Biomateriales y Nanomedicina, Instituto de Salud Carlos III, Spain.

2: Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV), Consejo Superior de Investigaciones Científicas - Universidad de la Rioja - Gobierno de La Rioja, Ctra. LO-20 Salida 13, Finca La Grajera, 26071 Logroño, Spain.

3: Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera S/N, 46022-Valencia, Spain.

E-mail: lgonber1@upvnet.upv.es

Introducción

Este proyecto se erige con la finalidad específica de proporcionar una solución efectiva para la protección del cultivo de la vid contra patógenos fúngicos perjudiciales, tales como los hongos de la madera y *Botrytis cinerea*, responsable de la podredumbre gris. La iniciativa adquiere relevancia al alinearse con las líneas y sublíneas de actuación de AGROALNEXT, contribuyendo, de esta manera, a la transformación del sector agroalimentario hacia un escenario más verde, sostenible, saludable y digital. En esencia, se busca superar la brecha existente entre los descubrimientos científicos, el desarrollo tecnológico y su implementación efectiva en la práctica agrícola.

Objetivos

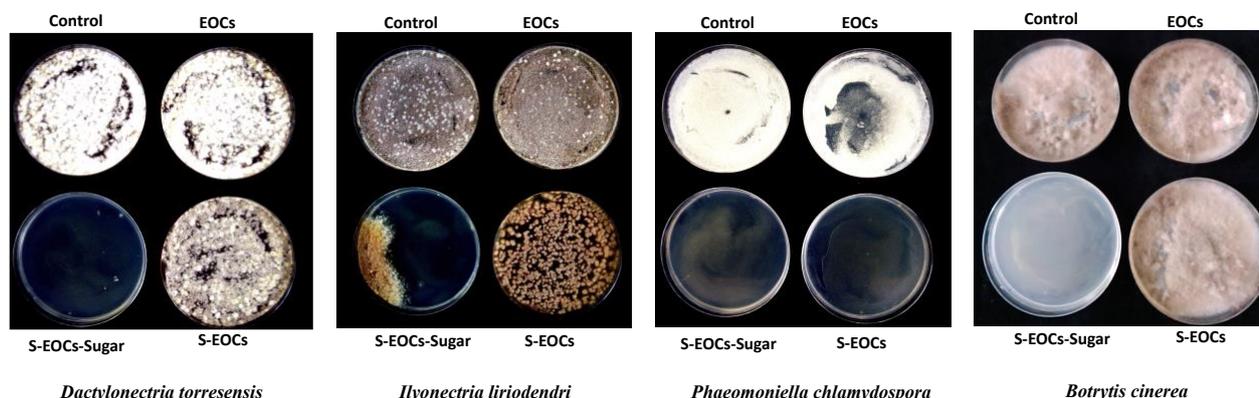
El proyecto financiado, **BIOPESTVID**, tiene como propósito general sentar las bases para la futura puesta en el mercado de un producto innovador en forma de biopesticida basado en aceites esenciales encapsulados con puertas moleculares inteligentes. Para alcanzar esta meta ambiciosa, se han delineado los siguientes objetivos específicos:

- Desarrollo, síntesis y caracterización de productos biopesticidas basados en aceites esenciales.
- Validación *in vitro* de los nuevos materiales cargados y funcionalizados.
- Validación *in planta* de los nuevos materiales cargados y funcionalizados.
- Diseño y realización de pruebas en vivero de vid y viñedo.

Estos objetivos parciales se alinean en el ámbito de sistemas integrados/ecológicos de fertilización y control de plagas, así como en la adaptación al cambio climático y la resiliencia de la producción agrícola. Con todo, **BIOPESTVID** busca contribuir fomentando así la transformación sostenible del sector agroalimentario y promoviendo la consecución de objetivos climáticos y medioambientales delineados en el Pacto Verde y la Estrategia de la Granja a la Mesa de la UE.

Materiales y métodos

Cultivos fúngicos de *Botrytis cinerea*, *Dactylonectria torresensis*, *Ilyonectria liriodendri* y *Phaeomoniella chlamydospora* se cultivaron en agar patata dextrosa (PDA) y se incubaron durante 1-2 semanas a 25 °C en oscuridad. Se preparó una suspensión conidial para cada aislado inundando la superficie del agar con 10 mL de agua destilada estéril (SDW) y raspando con una espátula estéril. La suspensión de esporas resultante se filtró a través de dos capas de gasa en un matraz erlenmeyer de 250 ml. El filtrado se diluyó con SDW y la concentración de conidios se ajustó con un hemacitómetro a 10^6 conidios/mL. Nuestro biopesticida innovador en estudio se trata de un aceite encapsulado en un material mesoporoso con puerta molecular tipo azúcar (S-EOCs-Sugar), el cual se dispersó a la concentración de 5 mg en 500 μ L de suspensión conidial y luego se plaqueó en placas de Petri PDA. De acuerdo con el estudio de lanzamiento, la cantidad de Aceite Esencial (EOC) y S-EOC se dispersó en una concentración equivalente a la de S-EOC-Sugar para garantizar que nuestros sistemas sean mejores con el tiempo. Las imágenes que se presentan a continuación fueron tomadas el 5º día de incubación a 25 °C en oscuridad, tiempo suficiente para ver el efecto de nuestro sistema en la actividad fúngica.



Resultados y Trabajo Futuro

Se ha preparado y caracterizado un sistema de liberación controlada basado en materiales mesoporosos encapsulados por EOCs y recubiertos con un derivado de una azúcar. De acuerdo con los resultados preliminares, los sistemas preparados muestran una gran actividad antifúngica del sistema presentado.

El trabajo futuro es el siguiente:

1. Validación vegetal de nuevos materiales cargados con moléculas bioactivas naturales y funcionalizados con recubrimientos de sacáridos como agentes antifúngicos contra *Botrytis cinerea*, *Dactylonectria torresensis*, *Ilyonectria liriodendri* y *Phaeomoniella chlamydospora*.
2. Diseño e implementación de las pruebas de vivero y viñedo necesarias para verificar y validar la tecnología.

Agradecimientos

Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT (AGROALNEXT/2022/032) y ha contado con el apoyo del MCIN con financiación de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17. I1) y por la Generalitat Valenciana. Esta investigación está financiada también por la Generalitat Valenciana y la Agència Valenciana de la Innovació (proyecto INNEST/2022/192) y es susceptible de ser cofinanciada por la Unión Europea. Esta investigación ha sido financiada por los proyectos PID2021-126304OB-C41 y PID2021-128141OB-C22 financiados por MCIN/ AEI /10.13039/501100011033/ y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional - Una forma de hacer Europa. Este estudio también ha contado con el apoyo de la Generalitat Valenciana (CIPROM/2021/007). A.B. gracias al MCIN, a su contrato BG20/00020 y a su proyecto PAID-PD-22 financiado por la UPV.

MEJORA DE PORTAINJERTOS ASISTIDA POR POLINIZADORES PARA AUMENTAR LA EFICIENCIA EN EL USO DE AGUA Y FERTILIZANTES EN TOMATE

F. Pérez-Alfocea, J.A. Martín-Rodríguez, J.J. Guerrero, M. Ormazabal, J.A. López-García, F. Sandoval, A.S. Prudencio, P. Martínez-Melgarejo y C. Martínez-Andújar.

Department of Plant Nutrition, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 25, 30100-Murcia.
e-mail: alfocea@cebas.csic.es

Palabras clave: *Bombus terrestris*, nutrición vegetal, RFID, servicios ecosistémicos, *Solanum* sp.

Introducción y objetivos

La seguridad alimentaria se ve amenazada por el cambio climático y los estreses abióticos asociados como la escasez de agua, las altas temperaturas, la salinidad y el déficit nutricional. Esos factores afectan a la fisiología del cultivo durante la floración y a los servicios ecosistémicos como las interacciones planta-polinizador. Si bien es necesario aportar grandes cantidades de agua y fertilizantes para sostener los cultivos, hay que aplicar el principio de ‘producir más con menos’ para aumentar la sostenibilidad agrícola y reducir su impacto ambiental. Sin embargo, la mejora de variedades con estabilidad agronómica bajo fertirrigación reducida es un objetivo muy prometedor, pero poco buscado hasta el momento. Este problema es especialmente relevante en cultivos hortícolas de alto valor como el tomate, debido a las dificultades para conciliar rendimiento y uso eficiente de recursos hídricos y fertilizantes. La mejora de portainjertos a partir de una amplia biodiversidad genética ofrece una alternativa directa para mejorar esos caracteres en variedades de élite en un cultivo que exige muchos recursos como el tomate, al tiempo que también puede afectar a los servicios de polinización.

A pesar de la creciente relevancia de los caracteres florales, las plataformas de fenotipado actuales tratan de identificar los rasgos genéticos de la resiliencia mediante el estado fisiológico de la planta, generalmente a partir de imágenes de las hojas, pero encuentran fuertes problemas en la cuantificación de los rasgos florales y en la predicción del fenotipo a partir del genotipo. Sin embargo, como el transporte de fotoasimilados desde la hoja (fuente) hasta la flor (sumidero) se reduce en las plantas de baja resiliencia, las flores son mejores indicadores que las hojas del bienestar de la planta. De hecho, la composición química de las flores cambia en respuesta al ambiente, al igual que la cantidad de polen y néctar que producen las flores, que sirven como alimento para los polinizadores (Borghi et al., 2019).

En proyectos anteriores encaminados a desarrollar portainjertos para aumentar el uso eficiente de nutrientes en tomate, se observó que las decisiones de forrajeo de los polinizadores *Bombus terrestris* estaban influenciadas por el genotipo del portainjerto y por el régimen de fertilización, mostrando mayor preferencia por las plantas más productivas y nutritivas cultivadas con fertilización reducida (Martínez-Andújar et al., 2023). Esos resultados abren nuevas perspectivas para el uso de polinizadores como fenotipadores naturales para seleccionar los fenotipos más resistentes en condiciones subóptimas y/o genotipos que aumentan sinérgicamente la productividad y la sostenibilidad de los cultivos al promover dicho servicio ecosistémico.

Este proyecto propone utilizar el carácter determinado por la preferencia de los polinizadores como una medida precisa de la relación funcional fuente-sumidero y la resiliencia de las plantas, según la influencia del genotipo y el ambiente. Para ello, se utilizará un prototipo de plataforma de fenotipado y selección asistida por polinizadores para la cuantificación automatizada de las interacciones Genotipo x Ambiente x Polinizador a través de un sistema de geo-posicionamiento de abejorros. Para demostrar su validez en agricultura, se generará un modelo conceptual basado en datos agronómicos, fisiológicos y

multiómicos en portainjertos experimentales, vinculando rasgos florales, preferencias de polinizadores y resiliencia de las plantas frente a diferentes regímenes de aplicación de agua y fertilizantes NPK. Este nuevo enfoque radical puede cambiar el paradigma de fenotipado y encontrar nuevos caminos para la mejora vegetal asistida por interacciones ecológicas, mejorando naturalmente los cultivos y los servicios ecosistémicos.

Los objetivos concretos del estudio son (i) desarrollar nuevos portainjertos de tomate con efectos sinérgicos sobre los polinizadores para aumentar la estabilidad del rendimiento en condiciones de fertirrigación reducida, y (ii) validar las decisiones de los polinizadores como un nuevo rasgo de fenotipado que ayuda a la mejora de cultivos.

Material y métodos

La variedad de tomate Unidarkwin F1 (Unigenia Semillas SLU) se injertó sobre un conjunto de portainjertos experimentales que incluían líneas de introgresión (IL) derivadas de un cruce entre *Solanum lycopersicum* cv. M82 y *S. pennellii* acc. LA716, antiguas accesiones de *S. lycopersicum* var. cerasiforme, *S. pimpinellifolium* acc. LA1589 y algunos de sus híbridos. Las plantas se cultivaron en invernadero en condiciones óptimas (control) y baja fertirrigación (50%) durante la temporada primavera-verano. Se colocaron colmenas de abejorros comerciales (*Bombus terrestris*) durante la floración y las preferencias de los polinizadores se analizaron mediante un sistema automatizado de seguimiento de polinizadores *ad hoc* basado en un sistema de identificación por radiofrecuencia (RFID). Este sistema consiste en la colocación de pequeños transpondedores pasivos en los insectos y antenas móviles a nivel de las estructuras florales, y permite la cuantificación precisa del número de visitas de los abejorros (VN), el tiempo total de visitas (TVT), y el tiempo por visita (VT) a las diferentes plantas.

Resultados y conclusión

Entre los portainjertos experimentales evaluados, al menos una línea IL y sus cruces con M82 y LA1589 aumentaron consistentemente parámetros rendimiento en fruto bajo fertirrigación reducida al aumentar el vigor de raíces y brotes y el estado nutricional de las hojas. Las decisiones de alimentación de los polinizadores estuvieron influenciadas por el genotipo del portainjerto y el régimen de fertirrigación. Mientras que los portainjertos híbridos aumentaron las visitas de polinizadores con fertirrigación óptima en comparación con las líneas parentales, la mayoría de los portainjertos experimentales aumentaron la atracción de polinizadores de la variedad injertada con baja fertirrigación, lo que garantizó la polinización de las flores con insumos subóptimos. Las preferencias de los polinizadores (VN, TVT, VT) en condiciones de suministro reducido de agua y fertilizantes se asociaron con el desarrollo y el estado fotosintético y nutricional de la planta. Los resultados apoyan la hipótesis de que las decisiones de alimentación de los polinizadores son afectadas por el genotipo (de la raíz) y las condiciones de cultivo, y podrían ser utilizadas en programas de selección y mejora al reflejar el estado fisiológico y nutricional de las plantas bajo presión ambiental, además de aportar efectos sinérgicos entre el portainjerto y el polinizador para lograr estabilidad y sostenibilidad en el rendimiento de los cultivos.

Referencias

- Borghi, M., Perez de Souza, L., Yoshida, T. and Fernie, A.R.** (2019) Flowers and climate change: a metabolic perspective. *The New Phytologist*, **224**, 1425-1441.
- Martínez-Andújar, C., Youssef, R.B., Prudencio, Á.S. et al.** (2023) Bumblebees sense rootstock-mediated nutrition and fertilization regime in tomato. *Plant Soil* **486**, 293–306.

Agradecimientos

Este proyecto ha recibido financiación del programa de investigación e innovación Horizon Europe – EIC PathFinder de la Unión Europea en virtud del acuerdo de subvención n.º 101098680 (DARKWIN) y de la Unión Europea Next Generation (proyectos BEEPHEN PDC2022-133986-I00 y RUETOM TED2021-132256B-C21). Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT y cuenta con el apoyo de MCIN con financiación de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y de la Fundación Séneca, con financiación de la Comunidad Autónoma Región de Murcia (CARM), así como una acción de formación doctoral para JJG (proyecto 21796/FPI/22).

EVALUACIÓN DE VARIEDADES DE MELÓN Y SANDÍA EN CONDICIONES DE DÉFICIT HÍDRICO Y SALINIDAD

Miguel Bracho Gil¹, Gorka Perpiñá¹, Silvia Ramos¹, Lorena Bellver¹, Carlos Alandes¹,
Andrea Berruga¹, Sara Mares¹, Miguel Ezquerro¹, Laura Próper¹, María García-
Cabrera¹, María José Díez¹, Santiago García-Martínez², Juan José Ruíz-Martínez², Ana
Pérez-de-Castro¹ y Belén Picó Sirvent¹

1: Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), Universitat
Politécnica de València, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia (España).

2: Departamento de Biología Aplicada. Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Universidad Miguel
Hernández, Avda. Universidad s/n, 03202, Elche, Alicante (España).
e-mail: mibragi@upv.es

Palabras clave: *Cucumis melo*, *Citrullus lanatus*, sequía, estrés hídrico, *Cucurbitaceae*

Introducción y objetivo

El melón (*Cucumis melo* L.) y la sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsumara & Nakai) son cucurbitáceas ampliamente cultivadas a nivel mundial. España es uno de los principales países productores y el principal exportador de ambos cultivos (FAOSTAT, 2023; <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>). La progresiva desertificación y la salinización de tierras de cultivo y acuíferos son algunos de los efectos del cambio climático. El ahorro de agua es un objetivo prioritario en agricultura al permitir, no solo reducir los costes de producción y el impacto ambiental que tiene esta actividad, sino también ampliar los cultivos a zonas marginales con escasez de agua o con recursos hídricos de mala calidad. Sin embargo, el déficit hídrico y la salinidad elevada tienen efectos sobre el crecimiento de las plantas, reduciendo tanto el rendimiento como la calidad de los frutos producidos. El aprovechamiento de la biodiversidad disponible de melón y sandía por su resiliencia frente a la escasez hídrica y a la salinización, permitiría su uso en agricultura de bajos insumos y con menor impacto ambiental. El objetivo de este trabajo, que se enmarca en los proyectos AGROALNEXT/2022/025 y PROMETEO 2021/072, ha sido la evaluación del efecto del déficit hídrico y el estrés salino en las características de planta y fruto de un conjunto de variedades tradicionales de melón y sandía que representan la variabilidad de la especie.

Material y métodos

Se evaluaron un total de 84 entradas de melón (75 subsp. *Melo*, de las cuales 7 eran de la var. *flexuosus*, y 9 subsp. *agrestis*), y 105 entradas de sandía, fundamentalmente de variedades tradicionales españolas (Tabla 1). Se realizaron dos ensayos en la campaña de primavera-verano de 2023; uno de déficit hídrico en un campo de cultivo con un sistema de riego por goteo, en la localidad de Alcàsser (Valencia) y otro de estrés por salinidad en un campo de cultivo con riego por inundación, en el Parque Natural de Carrizales (Elche, Alicante). Las entradas fueron sometidas a dos tratamientos en el ensayo de déficit hídrico, T1 (100% de riego, condiciones control) y T2 (50% de riego, condiciones de déficit hídrico); y con un tratamiento en el ensayo de salinidad (suelo naturalmente salino y agua de riego con elevada salinidad). En todas las filas se incluyeron tres controles de la especie correspondiente, según un modelo de diseño aumentado. Se analizaron un total de tres caracteres cualitativos y 12 cuantitativos, empleando los descriptores desarrollados por el *International Board for Plant Genetic Resources* (IBPGR) y la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV). Los caracteres de planta fueron: vigor, fecha de floración (masculina y femenina), número de frutos y producción. Los caracteres de fruto fueron: peso, longitud, anchura, espesor de la corteza, espesor de la pulpa y ancho de la cavidad (para *C. melo*), firmeza de la pulpa y la piel (para *C. melo*), grados brix y pH.

Tabla 1. Origen de las entradas de melón y sandía evaluadas en condiciones de estrés hídrico y salinidad.

País	Región	<i>C. melo</i> ¹	Sandía ²	Continente	<i>C. melo</i> ¹	Sandía ²
España	Andalucía	9/5/3/-/2	8/20/-	África	-/-/9/4	1/-/1
	Aragón	-/2/-/-	-/2/-	América		3/-/-
	Castilla y León		-/1/-	Asia	-/-/16/4	1/-/1
	Castilla-La Mancha	4/3/1/1/-	12/1/2	Europa	-/1/-/5/-	1/-/1
	Comunidad Valenciana	1/-/1/-	10/-/1			
	Extremadura	3/2/1/-	5/25/-			
	Islas Canarias		9/1/-			
	Islas Baleares	-/2/1/-	-/-			
	Madrid	-/1/1/-	-/-			
	Región de Murcia	-/3/1/-	-/-	Desconocido		1/-/1
Total españolas		17/14/11/1/2	44/50/3/-	Total global	-/1/-/30/8	7/-/1

¹Número de entradas (N) del COMAV / BGHZ / BAGERIM / Grupo de Cucurbitáceas del COMAV / MAYORA.

²Número de entradas (N) del COMAV / BGHZ / BAGERIM / Grupo de cucurbitáceas del COMAV.

Resultados y conclusión

El déficit hídrico ocasionó una disminución del vigor en la mayor parte de las entradas de ambas especies. Se observó variación entre entradas en la respuesta a estrés hídrico en el peso del fruto y el número de frutos por planta, si bien en un porcentaje elevado de las entradas de las dos especies ensayadas se observó una reducción de los valores de ambos caracteres en condiciones de déficit hídrico. Para ambas especies se identificaron entradas en las que el tratamiento con un 50% del riego no supuso una reducción en el peso del fruto y la producción (Figura 1). El estrés salino causó sobre la mayor parte de las entradas evaluadas de melón y sandía una mortalidad elevada en estado de plántula y una reducción del peso del fruto y de la producción. Posiblemente, la presión del estrés salino al inicio del cultivo resultó excesiva como consecuencia de la elevada conductividad del agua de riego. En cualquier caso, excepcionalmente en algunas entradas de melón la reducción del peso de fruto y producción no fue tan acusada en condiciones de salinidad (Figura 1).

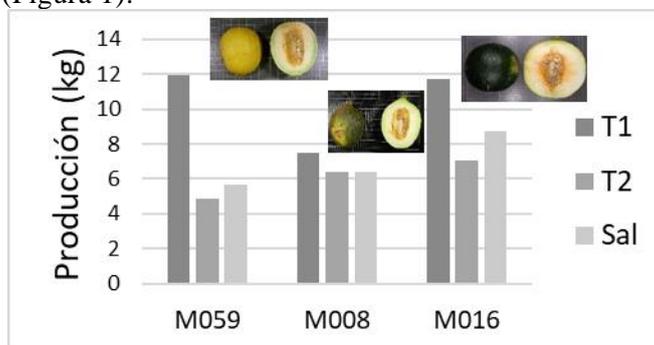


Figura 1. Producción por planta en tres entradas de *Cucumis melo* en las condiciones control (T1), con 50 % de riego (T2) y en condiciones de salinidad (Sal).

Se seleccionaron un total de 30 y 33 entradas de melón y sandía, respectivamente, por presentar una buena adaptación a las condiciones de déficit hídrico o por representar materiales únicos. Estas entradas se van a evaluar en las mismas condiciones en la campaña de primavera-verano 2024, tanto en Valencia, como en Murcia y Zaragoza, con objeto de confirmar su comportamiento frente a las condiciones de déficit hídrico. Por otra parte, el total de las entradas se volverán a evaluar en condiciones de salinidad en el Parque Natural de Carrizales, reduciendo el estrés salino en las fases iniciales del cultivo.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del programa AGROALNEXT (proyecto AGROALNEXT/2022/025), respaldado por el MCIN, con financiación de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y de la Generalitat Valenciana y del proyecto PROMETEO 2021/072, financiado por el programa para grupos de excelencia de la Conselleria de Educación, Universidades y Empleo de la GVA. A.B., M.E., M.G.C., S.M. y L.P. agradecen la ayuda en el marco del “Programa Investigo” (Generalitat Valenciana, Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia – Financiado por la Unión Europea – NextGenerationEU).

PUESTA A PUNTO DE LA METODOLOGÍA PARA LA EVALUACION DE LA RESPUESTA AL DÉFICIT HÍDRICO EN PEPINO

Alejandro Flores-León^{1*}, Gabriela Campos¹, Silvia Ramos¹, Ana Pérez-de-Castro¹, Carlos Romero², Antonio José Monforte², Belén Picó¹

1: Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV), Universitat Politècnica de València,

Camino de Vera s/n, 46022, Valencia (España).

2: Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), Universitat Politècnica de València, c/Ingeniero Fausto Elio s/n, 46022, Valencia (España).

e-mail: alfloleo@doctor.upv.es

Palabras clave: pepino, sequía, estrés hídrico

Introducción y objetivo

El pepino (*Cucumis sativus* L.) es un cultivo de la familia Cucurbitaceae, siendo España el principal productor y exportador de la Unión Europea (Eurostats, 2023; disponible en <https://ec.europa.eu/eurostat>). La producción de este cultivo y de otros de la familia de las cucurbitáceas, está amenazada por el cambio climático, en especial en países como España donde la escasez de agua puede afectar a la producción y calidad de los frutos. El desarrollo de variedades adaptadas a condiciones de déficit hídrico requiere, en primer lugar, la selección de material tolerante o resistente. La evaluación y selección de materiales por tolerancia a estrés hídrico en condiciones de campo puede verse dificultada por las condiciones climáticas, que resultan imprevisibles y pueden alterar la situación de estrés a la que quiere someterse al cultivo. Por tanto, resulta de interés desarrollar métodos alternativos para la evaluación de la respuesta a déficit hídrico. Existen distintos protocolos para la evaluación de la tolerancia a estrés hídrico en plántula en condiciones controladas, así como distintas medidas indirectas que permiten evaluar el estado fisiológico de las plantas. El objetivo de este trabajo, que se enmarca en los proyectos AGROALNEXT/2022/025 y TED (2021-132130B-I00), ha sido la puesta a punto de un método de evaluación de la respuesta a déficit hídrico en plántulas de pepino, en condiciones controladas en cámara de cultivo, evaluando la utilidad de distintas medidas indirectas del estado fisiológico de la planta.

Materiales y metodos

Se evaluaron un total de 11 entradas de pepino, previamente evaluadas por la respuesta al déficit hídrico en condiciones de campo. Para la evaluación de la tolerancia a la sequía se empleó una adaptación del método previamente descrito por Gómez-Guillamón y Fernández-Muñoz (2021). Un total de 9 plantas por variedad (3 como control y 6 en condiciones de déficit hídrico) se cultivaron en macetas de 7x7x8 cm, con sustrato universal, en cámara de cultivo con condiciones controladas de temperatura (25 °C/18 °C, día/noche) y fotoperiodo (14/10 h luz/oscuridad). Cuando las plantas alcanzaron el estado de 2 hojas verdaderas se sometieron a un régimen de estrés hídrico. Las macetas se regaron por inmersión en agua durante 2 min., manteniéndose posteriormente 4 días sin riego. Tras este período, volvieron a regarse por inmersión durante 2 min. Las evaluaciones de la tolerancia a la sequía se realizaron el cuarto (T4) y séptimo (T7) día después del segundo riego, valorándose el estado de cada planta asignando un valor (score) según una escala entre 0 (ausencia de efectos visibles como consecuencia del déficit hídrico) y 7 (síntomas de marchitez en toda la planta). Además, en ambas fechas se midieron las plantas empleando el sensor foliar Dualox (METOS®), que mide contenido de clorofila (chl_a), flavonoides (flav), antocianinas (anth) y el NBI (índice del balance de nitrógeno), el sensor PolyPen RP 410/UVIS (PSI (Photon Systems Instruments) spol. s r.o.), con el cual se obtiene el NDVI (índice de vegetación de diferencia normalizada), el MINI-PAM (Walz, Effeltrich, Germany), que evalúa la actividad del fotosistema II (YIELD), y el porómetro de hoja SC-1 (Fabricante Meter Group,

Inc., (Decagon Devices)), que determina la conductividad estomática (CE). En la última fecha, 7 días después del segundo riego, se determinó también el contenido de agua relativo (RWC), siguiendo el método de Jones y Turner (1978).

Resultados y conclusión

En la primera fecha de evaluación (T4) se observaron los primeros efectos del déficit hídrico, con una reducción general en NDVI. En la segunda fecha de evaluación (T7) se observaron diferencias significativas entre variedades en las puntuaciones asignadas. Se observó efecto de la variedad para los caracteres como la eficiencia del fotosistema II, el contenido de clorofila y antocianinas y la conductividad estomática. El RWC, fue significativamente inferior en las plantas en condiciones de sequía frente a las control (60% vs 90%). También se observó en efecto del déficit hídrico sobre el NBI, menor en las plantas sometidas a déficit hídrico, debido principalmente a un aumento del contenido de flavonoides. Las medidas indirectas con correlación significativa con la puntuación en T7 fueron: RWC (generalmente asociado a la susceptibilidad de las plantas a deshidratación), el contenido de flavonoides y clorofila, NDVI y la conductividad estomática (Figura 1).

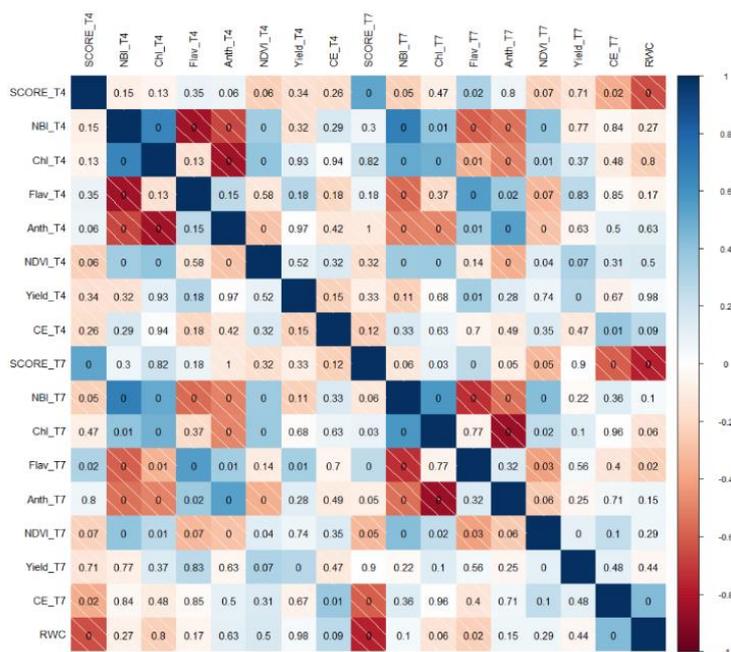


Figura 1. Matriz de correlaciones entre las distintas variables medidas (score, NBI, chl, flav y anth, NDVI, Yield, CE y RWC) a los distintos tiempos (T4 y T7). Se muestra para cada comparación el *p-value* de la correlación de Spearman, negativa en color rojo y positivas en color azul.

Considerando las correlaciones entre las medidas indirectas y las puntuaciones asignadas en el tiempo T7, y teniendo en cuenta el tiempo necesario para la toma de las medidas con el porómetro, el empleo del sensor foliar Dualex, combinado con la determinación de RWC, parece la forma más eficiente para evaluar el efecto del déficit hídrico en plántulas de pepino.

Referencias

- Gómez-Guillamón, M. L., & Fernández-Muñoz, R. Setting up a Selection Method for Drought Tolerance in Melon Seedlings. *Cucurbit Genetics Cooperative Report*, 44, 12-14.
- Jones, M. M., & Turner, N. C. (1978). Osmotic adjustment in leaves of sorghum in response to water deficits. *Plant Physiology*, 61(1), 122-126.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del programa AGROALNEXT (proyecto AGROALNEXT/2022/025), respaldado por el MCIN, con financiación de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y de la Generalitat Valenciana; y del proyecto TED (2021-132130B-I00) «Proyectos Estratégicos Orientados a la Transición Ecológica y a la Transición Digital» 2021, financiado por la Agencia Estatal de Investigación (AEI).

El Dátil Ilicitano como Ingrediente Clave para la reformulación de Preparados Cárnicos más saludables y sostenibles

Judith Rodríguez Párraga¹, Ángel Joaquín Ponce Martínez¹, Estrella Sayas Barberá¹, Casilda Navarro Rodríguez de Vera¹ y José Ángel Pérez Álvarez¹

¹Instituto de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH),
Universidad Miguel Hernández, Orihuela-03312 Alicante, España
email: judit.rodriguez@alu.umh.es

Palabras clave: palmera datilera, valorización, pasta de dátil, preparados cárnicos,

Introducción:

El creciente interés por el consumo de alimentos más saludables y sostenibles, ha impulsado el desarrollo de productos cárnicos que muestren un impacto positivo en la salud y hacia el medio ambiente. Entre las estrategias para alcanzar estas metas se encuentra la reformulación de productos cárnicos con nuevos ingredientes no cárnicos, que aporten nuevas propiedades nutritivas y saludables a los productos cárnicos comerciales. Así mismo, se trabaja en línea con una producción sostenible y con el aprovechamiento de coproductos para mejorar la eficiencia de los recursos naturales y promover un sistema alimentario más sostenible, dentro de una economía circular.

Los dátiles presentan una composición excepcional por su contenido en fibra dietética (como β -glucanos), ácidos grasos insaturados (ácidos oleico y linoleico), y una amplia gama de micronutrientes (como riboflavina, niacina, tocoferoles, potasio y calcio). Además, presentan fitoquímicos bioactivos, como ácidos fenólicos, polifenoles, y carotenoides. Todos estos compuestos bioactivos aumentan significativamente sus propiedades funcionales como su actividad antioxidante además de promover efectos beneficiosos para la salud (Fernández-López y col., 2022; Barakat y Alfheaid, 2023). Bajo este enfoque, los dátiles ilicitanos, no comerciales, aparecen como un producto interesante para transformarse en un ingrediente alimentario natural, funcional y sostenible, con propiedades nutritiva y bioactivas. El objetivo de estudio fue el desarrollar un ingrediente alimentario, natural y sostenible a partir del dátil ilicitano, y su aplicación en preparados cárnicos (tipo hamburguesas) para la mejora de su perfil nutricional.

Materiales y Métodos:

Obtención del ingrediente alimentario a partir de dátil ilicitano. Dátiles ilicitanos no comerciales, fueron preparados en la planta piloto EPSO-UMH. Los dátiles fueron pelados, deshuesados y picados. La pulpa picada fue lavada en agua en dos fases (1:1) y posteriormente escurrido, para obtener una pasta de dátil con unos 18 °B.

Elaboración de los preparados cárnicos (tipo hamburguesas). Se elaboraron 9 lotes de hamburguesas, con las siguientes concentraciones de pasta de dátil, como ingrediente alimentario (0%, 1%, 2% y 3%, 4%, 5%, 6%, 7% y 10%). Todas las hamburguesas presentaron la siguiente composición: carne de ternera (100%), sal (1,5%), perejil (0,5%) y ajo en polvo (0,05%). Tras el picado de la carne y la incorporación de resto de ingredientes se procedió a su homogenización y la separación en 9 lotes para la adición de los diferentes % de pasta de dátil. Finalmente, fueron moldeadas en piezas de 90 g.

De cada lote se determinaron las propiedades tecnológicas: propiedades de cocción, pH y coordenadas de color. El pH se determinó utilizando un pHmetro GLP 21 y para las coordenadas de color se utilizó un espectrofotómetro CM-700d. Para las propiedades de cocción, se pesaron las hamburguesas y se

determinaron los diámetros, antes y después del tratamiento térmico. Los parámetros a calcular fueron: rendimiento por cocción, reducción de diámetro (RD). Después del cocinado, se realizó un el análisis sensorial de las hamburguesas. Todos los resultados fueron expresados por su media y desviación estándar y análisis de la varianza (ANOVA) fue realizado en el programa estadístico SPSS (v. 27.0 SPSS).

Resultados y conclusiones

En la tabla 1 se resumen los resultados de los lotes de hamburguesas con pasta de dátil a diferentes %.

Tabla 1.- Media y desviaciones estándar de los parámetros fisicoquímicos y de cocción obtenidos para los diferentes lotes de hamburguesas elaboradas

LOTES		pH	L*	a*	b*	% Rendimiento de cocción
CONTROL	Media	6.05	43.10	9.01	7.63	80.63
	Desv.	0.07	3.43	3.96	1.20	3.43
1%	Media	6.30	36.87	8.90	13.60	82.65
	Desv.	0.02	2.35	0.30	0.87	0.78
2%	Media	6.07	36.87	8.53	13.23	88.25
	Desv.	0.01	0.31	2.35	0.72	0.35
3%	Media	6.04	34.10	9.93	12.07	87.15
	Desv.	0.01	1.65	1.24	0.38	0.21
4%	Media	6.30	36.87	8.90	13.60	86.20
	Desv.	0.02	2.35	0.30	0.87	2.23
5%	Media	6.07	36.87	8.53	13.23	88.75
	Desv.	0.01	0.31	2.35	0.72	0.35
6%	Media	6.04	34.10	9.93	12.07	87.15
	Desv.	0.01	1.65	1.24	0.38	0.21
7%	Media	5.98	37.16	13.49	7.61	79.45
	Desv.	0.17	0.24	0.57	0.03	3.13
10%	Media	5.97	38.36	11.55	6.35	75.33
	Desv.	0.05	0.08	0.21	0.07	2.21

La incorporación de dátil, no afectó al pH, pero si afectó a las coordenadas de color y a las propiedades de cocción, observando un aumento de rendimientos a concentraciones intermedias ($P < 0.05$). Respecto a los resultados del análisis sensorial tras la cocción, mostró que las muestras con dátiles presentaron muy buena aceptación. Se concluye, que la reformulación de preparados cárnicos con pulpa de dátil como ingrediente alimentario es una buena estrategia, con efectos tecnológicos positivos en las propiedades de cocción y sensoriales, además, se contribuye a la valorización de dátiles no comerciales y se promueve la cultura local. y se impulsa nuevas oportunidades para todos los operadores de la cadena de valor alimentaria.

Referencias

- Barakat, H., & Alfheaid, H. A. (2023). Date Palm Fruit (*Phoenix dactylifera*) and Its Promising Potential in Developing Functional Energy Bars: Review of Chemical, Nutritional, Functional, and Sensory
- Fernández-López, J., Viuda-Martos, M., Sayas-Barberá, E., Navarro-Rodríguez de Vera, C., & Pérez-Álvarez, J. Á. (2022). Biological, nutritive, functional and healthy potential of date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.): Current research and future prospects. *Agronomy*, 12(4), 876.

Agradecimientos: Este trabajo ha contado con el apoyo del Plan Complementario de Agroalimentación (AGROALNEXT-059) financiado por MCIN con fondos NextGenerationEU de la Unión Europea (PRTR.C17.I1) y la Generalitat Valenciana, con el título: “Valorización integral de recursos agroalimentarios tradicionales de la Comunitat Valenciana. Desarrollo de nuevos productos de uso agrícola y alimentario a partir del dátil ilicitano. Reconocimiento a la Catedra Palmeral de Elche de la UMH por todo su apoyo y al Programa IDIES.

PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS DEL PIMIENTO BLANCO DE VILLENNA

Ana Fita^{1*}, Marisa Jimenez-Perez¹, Estela Moreno¹ y Adrián Rodríguez-Burruezo¹

1: Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera SN, CP 46022, Valencia, España.

e-mail: anife@btc.upv.es

Palabras clave: diversificación agroalimentaria, sabor, aroma, valorización variedades locales

Introducción y objetivo: Como puerta de entrada de nuevas especies desde el descubrimiento de América, España se convirtió en un centro de diversificación del pimiento, con gran diversidad tanto morfológica como molecular (Pereira *et al.* 2019). Esta diversidad es la consecuencia del cultivo y adaptación local por selección artesanal de los agricultores. Así, a lo largo de generaciones se ha desarrollado un extraordinario número de variedades locales adaptadas a determinadas zonas de cultivo, usos y preferencias alimentarias. Este es el caso del Pimiento Blanco de Villena. Este pimiento es un pimiento de tipo 'wax', que se ha conservado en la zona de Villena y Vall D'Albaida. Desde hace varios años el grupo de mejora de pimientos del COMAV ha trabajado tanto en tipificar el material local como en su valorización y mejora genética.

Un objetivo del proyecto HortNext es valorizar variedades hortícolas infrautilizadas que pueden aportar nuevos sabores y mejorar la aportación de elementos saludables a la dieta. Una gran parte del proceso de (re)valorización pasa por que el consumidor sea capaz de reconocer, apreciar y demandar un determinado producto en el mercado, otorgándole unas propiedades diferenciadas. Siendo la valoración visual y percepción gustativa/sensorial fundamental. Por este motivo, el objetivo del presente estudio fue caracterizar el perfil de cata de diversas variedades o selecciones dentro de la tipología de Pimiento Blanco que se cultiva en Villena y su comparación con variedades comerciales de referencia.

Material y métodos: Como material vegetal se utilizaron 10 accesiones de pimiento blanco, i.e. selecciones mejoradas de fuentes locales de agricultores, y 4 variedades tipo wax comerciales (Monanta, Bacskai, Feherozon y Cynthia). Las plantas fueron cultivadas en campos de agricultores locales del área de Villena y se recolectaron en su momento óptimo de madurez comercial: inmaduro blanco antes del inicio de la síntesis de carotenoides. Los frutos se trasladaron al laboratorio donde se lavaron y trocearon para realizar la cata. La cata se realizó por un panel de ocho catadores semientrenados. Todos los parámetros se evaluaron en una escala de 0 a 5. Los parámetros evaluados fueron: i) dureza de la piel, siendo 0 blanda y 5 muy dura; ii) textura, siendo 0 suave y 5 crujiente; iii) sabor, siendo 0 no agradable y 5 muy dulce y sabroso; y iv) aroma, siendo 0 ningún aroma y 5 muy aromático. En el presente trabajo se estudió i) la diversidad de selecciones de variedades locales de este tipo varietal para parámetros sensoriales, y ii) si los parámetros empleados habitualmente en la caracterización sensorial de pimientos comunes son útiles para estos tipos tan particulares.

Resultados y conclusión: El valor promedio de la dureza de la piel para las variedades testadas se situó en 3,72 aunque existieron diferencias significativas entre las diferentes accesiones. Especialmente destacaron por su dureza las variedades de PV4, PV5, PV6, PV7, PV8 y PV9. La dureza de la piel es un parámetro determinante para el tipo de uso de los pimientos. Así en los pimientos que se consumen en fresco o

minimamente procesados (fritura, plancha) no se valora positivamente una gran dureza de la piel. Sin embargo, para pimientos para asar, hervir y enlatar o en encurtidos esta resistencia de la piel resulta fundamental para resistir el procesado y llegar al consumidor con una textura adecuada. La textura media de los tipos evaluados se situó en 2.91. Esto indica que los pimientos, en general, no fueron percibidos como muy crujientes, aunque existieron diferencias entre las diferentes genotipos. Monanta (C1) destacó por su alto valor en textura. De nuevo el uso que se le dé a los pimientos es importante, pues valores más altos estarían asociados a pimientos consumidos en fresco que no es tan habitual para los pimientos tipo wax. Finalmente, los valores promedio de sabor y aroma fueron 2.4 y 2.9 respectivamente. Estos valores son moderados y parecen menores a los que se deducirían de los niveles de azúcares solubles que se han descrito para estos tipos anteriormente, en torno a 25 g de azúcares totales /kg de peso fresco (Jimenez-Perez *et al.*, 2023). Hay que tener en cuenta que estos pimientos se cosechan en estado inmaduro, lo que se traduce en un contenido en azúcares inferior, aproximadamente la mitad, de lo que alcanzan la madurez fisiológica que es cuando se consumen los pimientos rojos, por lo que la percepción de dulzor es siempre menor que en estos. Aún así, los resultados mostraron variación entre las accesiones evaluadas lo que permitirá seleccionar tipos con diferentes combinaciones de sabor/textura etc. Se puede concluir que dentro de las variedades y selecciones estudiadas se pueden distinguir entre las que son adecuadas para su procesado o uso asadas y las más adecuadas para ensaladas. En general, como se esperaba por el estado de madurez al que se cosechan, no se distinguen por aportar un sabor dulce. Más bien por sus notas herbáceas en la nariz y en la masticación, especialmente en ensalada o tras el asado o la plancha y, en los casos de accesiones de piel dura, en el encurtido. En el presente trabajo se han identificado varias accesiones aptas para cada uno de estos usos. Asimismo, los parámetros empleados para su caracterización sensorial son útiles, aunque sería importante algún otro que identifique los matices herbáceos del aroma y flavor propios de este tipo tan particular.

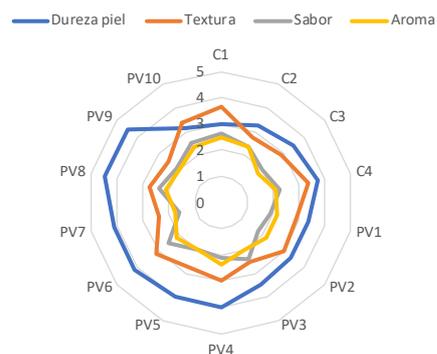


Figura 1. Izquierda: Detalle de PV9 donde se observa el fenotipo típico de los pimientos blancos de Villena. Derecha: diagrama radial donde se muestran los valores de cata de los 14 genotipos de pimiento blanco.

Referencias:

Jiménez-Perez, M, Moreno Peris, E., Adalid-Martinez, A.M., Fita, A., Rodríguez-Burruezo, A (2023). Study of Spanish wax peppers (*Capsicum annuum* L.) and their experimental hybrids under organic conditions. En: 18th EUCARPIA Meeting Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant. (51). Plovdiv, Bulgaria.

Pereira-Dias, L., Vilanova, S., Fita, A., Prohens, J., & Rodríguez-Burruezo, A. (2019). Genetic diversity, population structure, and relationships in a collection of pepper (*Capsicum* spp.) landraces from the Spanish centre of diversity revealed by genotyping-by-sequencing (GBS). *Horticulture research*, 6.

Agradecimientos: Esta publicación ha sido financiada parcialmente por el proyecto AGROALNEXT/2022/027 dentro del programa AGROALNEXT que cuenta con el apoyo de MCIN con financiación de la Unión Europea NextGeneration EU (PRTR-C17.11) y de la Generalitat Valenciana, también por el proyecto AGRVAL/2023/023 de la Generalitat Valenciana.

Aceites esenciales de coníferas contra plagas de pulgón: La unión hace la fuerza

José Luis Casas^{1*}, María López Santos-Olmo¹, Elisa Garzo³, Charlotte Ndiribe², Alberto Fereres³ y M^a Ángeles Marcos-García¹

1: Unidad Asociada CSIC-UA IPAB (Interacciones Planta-insecto y Agentes de Biocontrol). Instituto de Investigación CIBIO (Centro Iberoamericano de la Biodiversidad). Universidad de Alicante, Ctra. San Vicente del Raspeig s/n 03690-San Vicente del Raspeig (Alicante).

e-mail: jl.casas@ua.es

2: Universidad de Lagos (Nigeria). Dirección actual: Instituto de Investigación CIBIO (Centro Iberoamericano de la Biodiversidad). Universidad de Alicante.

3: Unidad Asociada CSIC-UA IPAB (Interacciones Planta-insecto y Agentes de Biocontrol). Instituto de Ciencias Agrarias (ICA). CSIC. Madrid.

Palabras clave: Insecticidas naturales, manejo integrado de plagas, enemigos naturales, gráfico de penetración eléctrica (EPG).

Introducción y objetivo. La aplicación de estrategias de manejo integrado de plagas al control de pulgones en invernadero sigue siendo un reto de primera magnitud para ofrecer alternativas al empleo de insecticidas químicos y es, más que nunca, una prioridad. En este reto, los aceites esenciales constituyen algo más que una promesa, aunque todavía existen algunas limitaciones que son necesarias superar para generalizar su uso como insecticidas naturales. Los aceites esenciales son mezclas altamente diversas de compuestos volátiles y semivolátiles que se obtienen de algunas plantas mediante procesos de hidrodestilación, destilación a vapor, destilación seca o el prensado mecánico en frío (para el caso de los cítricos). Los aceites esenciales son particularmente abundantes en familias como Lamiaceae, Myrtaceae, Umbelliferae, Lauraceae o Rutaceae, pero también en especies de coníferas, que sin ser tan conocidas como las familias anteriores, algunas especies de Pinaceae y Cupressaceae también han sido consideradas tradicionalmente como relevantes desde el punto de vista etnobotánico (El Omari et al., 2021; Batiha et al., 2023). El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de dos aceites esenciales obtenidos a partir de hojas de pino (*Pinus halepensis*) y ciprés (*Cupressus sempervirens*), tanto por separado como en mezclas, sobre el pulgón *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) y su enemigo natural la larva del sirfido *Sphaerophoria rueppelli* (Diptera: Syrphidae).

Material y métodos. Los aceites esenciales de pino (*P. halepensis*) y ciprés (*C. sempervirens*) fueron obtenidos por hidrodestilación. La actividad biológica de los aceites se caracterizó mediante dos ensayos. 1. **Bioensayos de mortalidad del pulgón:** el ensayo se realizó en placas Petri de 5,5 cm de diámetro con papel de filtro humedecido en la base y un disco de hoja de pimiento (*Capsicum annuum* L.) de 1,7 cm de diámetro sobre el que se colocaron 10 adultos ápteros de *M. persicae*. Los aceites esenciales, disueltos en acetona, se aplicaron por pulverización sobre el disco de hoja de pimiento y los pulgones a diferentes dosis (Tabla 1) y con un volumen total de 1 mL por disco. 2. **Bioensayos de mortalidad de enemigos naturales de pulgones:** Se utilizaron larvas de *Sphaerophoria rueppelli*. Los ensayos fueron esencialmente similares a los de pulgón, pero se colocaron 2-3 larvas directamente sobre los discos de papel. En todos los casos, las placas se mantuvieron a 24 ± 2°C y 60% HR en cámara de cultivo. Se realizaron conteos del número de pulgones muertos tras 24 y 48h de exposición. Para valorar el efecto de los aceites en el comportamiento alimentario del pulgón: se utilizó la técnica de **gráficos de penetración eléctrica (EPG)**, realizándose registros de 8 h de duración.

Resultados y conclusión. El aceite esencial de ciprés, liderado en su composición por un monoterpenoide bicíclico como el α -pineno, provocó unos porcentajes de mortalidad frente a *Myzus persicae* del 12-35% a las 24 h de tratamiento y 14-44% a las 48 h en función de la dosis aplicada (Tabla 1). Por su parte, el aceite

esencial de pino, cuyo componente mayoritario es, sin embargo, un sesquiterpenoide como el **cariofileno**, resultó más eficaz, con una mortalidad del 36-77% a las 24 h y del 43-90% a las 48 h, también en función de la dosis aplicada (Tabla 1). De manera muy relevante, la combinación entre ambos aceites fue más eficaz que los aceites por separado, alcanzando una mortalidad del 96% a las 24 h y del 98% a las 48 h (Tabla 1), lo que sugiere la aparición de efectos sinérgicos que, por el momento, no han conseguido ser explicados ni caracterizados.

Tabla 1. Mortalidad de pulgones tratados con aceites esenciales de pino y ciprés.

Tratamiento	Dosis (µl/ml) ^{1,2}	Mortalidad (%) de <i>Myzus persicae</i>	
		24 h	48 h
Aceite esencial de ciprés	4	12,0±1,4	13,5±1,4
	0	35,0±1,9	43,5±2,2
Aceite esencial de pino	4	36,0±1,7	43,3±1,6
	16	77,0±2,2	90,0±1,7
Mezcla de aceites esenciales de pino y ciprés	4	55,3±14,1	72,3±3,2
	8	85,3±8,1	89,7±7,6
	16	96,3±4,0	98,0±3,5

¹Los aceites esenciales se aplican disueltos en acetona.

²En el caso de las mezclas, las dosis indican el volumen total de aceite aplicado, obtenido sumando la mitad de cada especie.

Los resultados sugieren que el aceite de coníferas, particularmente de pino, pueden constituir una alternativa prometedora como insecticida natural, sobre todo si se usan combinados. Así lo avala también la baja tasa de mortalidad de estos aceites (generalmente inferior al 20%) frente a larvas del sírfido *S. rueppellii* (eficiente depredador de pulgones en los invernaderos mediterráneos). Finalmente, el análisis por EPG (Figura 1) reveló que mientras que el aceite de ciprés prácticamente no altera el proceso alimentario de los pulgones, el de pino fue capaz de reducir el porcentaje de pulgones

que realizaron una ingestión (onda E2) continuada de fluido floemático del cual se alimenta, observándose una mayor duración de la fase “no prueba” (Figura 1). Esto pone de manifiesto que el aceite de pino puede alterar el comportamiento alimentario del pulgón.

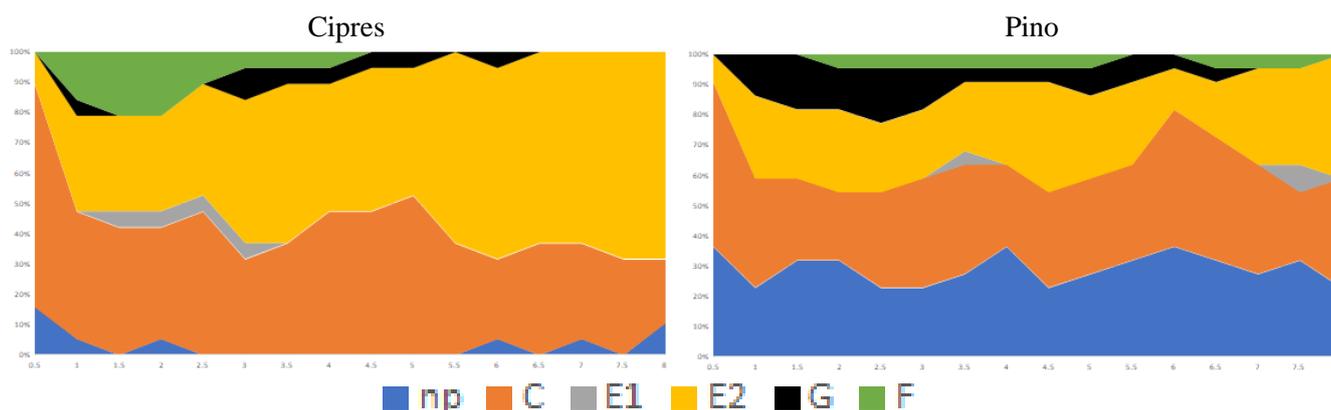


Figura 1. Porcentaje de pulgones que realizan una determinada actividad asociada al comportamiento alimentario en intervalos de 30 minutos sobre las 8h totales del registro de EPG en plantas de pimiento tratadas con aceite esencial de ciprés (A) y pino (B). Leyenda: np: no prueba, C: movimiento de los estiletes entre los espacios intracelulares, G: ingestión de savia xilemática, F: descarrilamiento de los estiletes, E1 y E2 salivación e ingestión respectivamente, en célula floemática.

Referencias.

El Omari, N., Guaouguau, F.E., El Menyiy, N., Benali, T., Aanniz, T., Chamkhi, I. et al. 2021. Phytochemical and biological activities of *Pinus halepensis* mil., and their ethnomedicinal use. *Journal of Ethnopharmacology* 268, 113661. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113661>.

Batiha, G.E.-S., Teibo, J.O., Shaheen, H.M., Akinfe, O.A., Awad, A.A., Teibo, T.K.A., Alexiou, A., Papadakis, M. 2023. Bioactive compounds, pharmacological actions and pharmacokinetics of *Cupressus sempervirens*. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 396:389–403. <https://doi.org/10.1007/s00210-022-02326-z>.

Agradecimientos. Este trabajo forma parte del Proyecto AGROALNEXT/2022/052-BIOPESTNEW que ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades con fondos del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia a través de la Conselleria de Educación, Universidades y Empleo de la Generalitat Valenciana.