
1.- INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1.- El albaricoquero: <i>Prunus armeniaca</i>	3
1.2.- Descripción taxonómica y botánica de la especie.....	3
1.3.- Origen y distribución del cultivo.....	4
1.4.- Importancia económica del cultivo.....	5
1.5.- Diversificación varietal.....	9
1.6.- El virus de la Sharka.....	12
1.6.1.- Referencia histórica y distribución geográfica.....	12
1.6.2.- Importancia económica.....	13
1.6.3.-Agente causal.....	15
1.6.4.- Huéspedes.....	15
1.6.5.- Síntomas.....	16
1.6.6.- Epidemiología y control de la enfermedad.....	17
1.6.7.- Sensibilidad varietal.....	19
1.6.8.- Fuentes de resistencia.....	20
1.7.- Mejora genética y caracterización varietal.....	21
1.8.- Marcadores genéticos.....	26
1.8.1.- Marcadores morfológicos.....	26
1.8.2.- Isoenzimas.....	26
1.8.3.- RFLPs (Restriction fragment length polymorphism).....	27
1.8.4.- RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA).....	29
1.8.5.- AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphism).....	30
1.8.6.- Otros marcadores moleculares.....	31
1.9.- Aplicación de los marcadores moleculares en la mejora genética.....	32
2.- OBJETIVOS GENERALES.....	37

3.-MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES.....	41
3.1.- Extracción del ADN genómico.....	43
3.2.- RFLPs.....	43
3.2.1.- Digestión del ADN y transferencia a membrana.	44
3.2.2.- Clonación y marcaje de sondas.	46
3.2.3.- Hibridación y detección.	47
3.3.- RAPDs.....	48
3.4.- AFLPs.....	52
4.- COMPARACIÓN DE DISTINTOS TIPOS DE MARCADORES MOLECULARES PARA SU APLICACIÓN EN ESTUDIOS GENÉTICOS EN ALBARICOQUERO.....	57
4.1.-INTRODUCCIÓN.....	59
4.2.- OBJETIVOS.....	60
4.3.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	60
4.4.- RESULTADOS.....	63
4.4.1.- Índices estimadores de las distancias genéticas.	63
4.4.2.- RFLPs	65
4.4.2.1.- Polimorfismo.	65
4.4.2.2.- Agrupación de variedades.	66
4.4.3.- RAPDs	67
4.4.3.1.- Polimorfismo.	67
4.4.3.2.- Agrupación de variedades.	68
4.4.4.- AFLPs.	69
4.4.4.1.- Polimorfismo.	69
4.4.4.2.- Agrupación de variedades.	70
4.4.5.- Isoenzimas	72

4.5.- DISCUSIÓN.....	79
4.5.1.- Identificación de variedades	79
4.5.2.- Diversidad genética entre variedades de albaricoquero	80
4.5.3.- Elaboración de mapas genómicos	82
4.6.- CONCLUSIONES.	84
5.- MAPAS GENÓMICOS DE DOS VARIEDADES DE ALBARICOQUERO BASADOS EN MARCADORES MOLECULARES TIPO RAPD Y AFLP.	87
5.1.- INTRODUCCIÓN.....	89
5.2.- OBJETIVOS.....	91
5.3.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	91
5.3.1.- Población segregante	91
5.3.2.- Obtención de los marcadores	92
5.3.2.1- RAPDs	92
5.3.2.2- AFLPs	93
5.3.3.- Análisis de los datos	93
5.3.4.- Obtención del carácter resistencia a Sharka	94
5.3.5.- Elaboración del mapa	95
5.4.- RESULTADOS.	96
5.4.1.- Polimorfismo	96
5.4.1.1.- RAPDs	96
5.4.1.2.- AFLPs	98
5.4.2.- Elaboración del mapa	102
5.4.3.- Comparación entre mapas	102
5.4.4.- Longitud y densidad del mapa	103
5.4.5.- Herencia del carácter resistencia a Sharka	104
5.5.- DISCUSIÓN.....	110

5.5.1.- Polimorfismo.	110
5.5.1.1.- RAPDs	110
5.5.1.2.- AFLPs	110
5.5.2.- Heterocigosidad.	111
5.5.3.- Marcadores con segregación distorsionada.	112
5.5.4.- Grupos de ligamiento.	113
5.5.5.- Comparación entre mapas.	114
5.5.6.- Herencia del carácter resistencia a Sharka y su posición en el mapa	114
5.6.- CONCLUSIONES.	117
6.- BÚSQUEDA DE MARCADORES MOLECULARES LIGADOS A LA ANDROESTERILIDAD Y LA AUTOINCOMPATIBILIDAD EN ALBARICOQUERO.	119
6.1.- INTRODUCCIÓN.	121
6.2.- OBJETIVOS.	124
6.3.- MATERIALES Y MÉTODOS.	124
6.3.1.- Material vegetal.	124
6.3.2.- Determinación de la Androesterilidad.	124
6.3.3.- Determinación de la Autocompatibilidad.	125
6.3.4.- BSA (Bulk Segregant Analysis)	125
6.3.5.- Análisis por selección directa de cebadores.	126
6.4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	127
6.4.1.- BSA (Bulk Segregant Analysis).	127
6.4.2.- Análisis por selección directa de cebadores	131
6.4.2.1.- Androesterilidad.	131
6.4.2.2.- Autocompatibilidad.	132
6.5.- CONCLUSIONES.	136
7.- CONCLUSIONES GENERALES	137

ANEJOS	141
ANEJO I: Tampones y Medios	143
ANEJO II: Variedades de albaricoquero.....	149
ANEJO III: Poblaciones segregantes.....	157
ANEJO IV: Conceptos básicos mapas genómicos.....	161
ANEJO V: Marcadores obtenidos para la elaboración de los mapas	165
ANEJO VI: Síntomas y determinación de la resistencia a Sharka.....	173
BIBLIOGRAFÍA	181

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 1.1.- Principales países productores de albaricoque.	8
Tabla 1.2.- Superficie cultivada y producción de albaricoque en España.	8
Tabla 3.1.- Marcaje de las sondas utilizadas en RFLP	47
Tabla 3.2.- Reacción de amplificación de los marcadores tipo RAPD.....	49
Tabla 3.3.- Componentes de la digestión del ADN en la técnica de los AFLPs.	52
Tabla 3.4.- Componentes de la ligación en AFLPs.	53
Tabla 3.5.- Componentes de la reacción de preamplificación en AFLP.	54
Tabla 3.6.- Marcaje radiactivo del cebador EcoRI	54
Tabla 3.7.- Reacción de amplificación selectiva en AFLP.....	55
Tabla 4.1.- Variedades presentes en el estudio, su origen y resistencia o susceptibilidad al virus de la Sharka-	61
Tabla 4.2.- Combinaciones de sondas y enzimas de RFLPs utilizadas en las 16 variedades de albaricoquero.	66
Tabla 4.3.- Matriz de similaridad entre cultivares usando marcadores RFLPs.	67
Tabla 4.4.- Matriz de similaridad entre cultivares usando marcadores RAPDs.	69
Tabla 4.5.- Marcadores AFLPs obtenidos en el estudio de diversidad de albaricoquero, que distinguen las variedades Goldrich y Valenciano.....	70
Tabla 4.6.- Matriz de similaridad entre cultivares usando marcadores AFLPs.....	71
Tabla 4.7.- Matriz de similaridad entre cultivares usando isoenzimas.....	72
Tabla 4.8.- Correlaciones obtenidas a partir de las distancias genéticas entre variedades utilizando diferentes sistemas de marcadores.....	73
Tabla 4.9.- Variabilidad genética obtenida con los sistemas de marcadores RFLP, RAPD y AFLP en albaricoquero.....	73
Tabla 4.10.- Comparación entre matrices de similaridad obtenidas a partir de subgrupos de marcadores procedentes de las diferentes combinaciones cebador/enzima	74
Tabla 4.11.- Marcadores que definen variedades resistentes a Sharka.	74
Tabla 5.1.- Marcadores que definen las variedades resistentes a Sharka.	95
Tabla 5.2.- Tipos de segregación obtenidos con los marcadores RAPD y AFLP	99

Tabla 5.3.- Variabilidad genética del albaricoquero obtenida con marcadores RAPD y AFLP	99
Tabla 5.4.- Número de fragmentos polimórficos obtenidos con los marcadores AFLPs de acuerdo a la combinación cebador/enzima usada.....	100
Tabla 5.5.- Valores de segregación de los marcadores más probablemente asociados al carácter resistencia a Sharka en la primera aproximación a la herencia del carácter	104
Tabla 5.6.- Hipótesis de herencia de la resistencia a Sharka	116
Tabla 6.1.- Marcadores obtenidos con BSA (Bulk Segregant Analysis).....	130
Tabla 6.2.- Marcadores ligados al carácter androesterilidad	131
Tabla 6.3.- Individuos de la población cuyos genotipos para autocompatibilidad se encuentran determinados.	133
Tabla III.1.- Poblacion segregante procedente del cruce Goldrich x Valenciano...	159
Tabla III.2.- Población segregante procedente del cruce Gitano x Pepito del Rubio	159
Tabla V.1.- Marcadores que forman parte del mapa Goldrich y sus tipos de segregación	169
Tabla V.2.- Marcadores que forman parte del mapa Valenciano y sus tipos e segregación	170
Tabla V.3.- Total de marcadores RAPDs y AFLPs obtenidos para la elaboración de los mapas	171

FIGURAS

FIGURA 1.1.- Principales países productores de albaricoque.	7
FIGURA 1.2.- Comparación de frutos de la variedad Rojo de Carlet afectados por Sharka y libres de virus.	17
FIGURA 1.3.- Síntomas de Sharka en frutos de la variedad Ginesta.....	17
FIGURA 3.1.- Digestión del ADN de las 16 variedades empleadas en el estudio con el enzima EcoRI.	45
FIGURA 3.2.- Esquema de la reacción en cadena de la Taq polimerasa.	51
FIGURA 4.1.- Comparación entre los coeficientes de Nei y Jaccard.	64

FIGURA 4.2.- Dendrograma obtenido con marcadores RFLPs	75
FIGURA 4.3.- Dendrograma obtenido con maracadores RAPDs	75
FIGURA 4.4.- Dendrograma obtenido con marcadores AFLPs.....	76
FIGURA 4.5.- Dendrograma obtenido con isoenzimas.....	76
FIGURA 4.6.- Análisis RFLP de 4 de las 16 variedades de albaricoquero presentes en el estudio.....	77
FIGURA 4.7.- Análisis RAPD de las 16 variedades de albaricoquero incluidas en el estudio.....	77
FIGURA 4.8.- Análisis AFLP de las 16 variedades de albaricoquero incluidas en el estudio.....	78
FIGURA 4.9.- Representación de las distancias genéticas obtenidas comparando los resultados de RAPD y AFLP.....	78
FIGURA 5.1.- Parental femenino: Goldrich	92
FIGURA 5.2.- Parental masculino: Valenciano	92
FIGURA 5.3.- Amplificación RAPD del cebador B-8	97
FIGURA 5.4.- Amplificación RAPD del cebador C-16.....	98
FIGURA 5.5.- Amplificación AFLP combinación cebador/enzima AA/CTT	101
FIGURA 5.6.- Amplificación AFLP combinación cebador/enzima AA/CCA	101
FIGURA 5.7.- Mapa genómico del parental femenino Goldrich	106
FIGURA 5.8.- Mapa genómico del parental masculino Valenciano	107
FIGURA 5.9.- Comparación de ambos mapas con el establecimiento de homologías por medio de los marcadores de segregación 3:1	108
FIGURA 5.10.- Posición del carácter Sharka en el mapa de Goldrich.....	109
FIGURA 6.1.- Amplificación RAPD correspondiente al cebador M-4, que da lugar a un marcador de androfertilidad.....	132
FIGURA 6.2.- Amplificación RAPD correspondiente al cebador P-10, que da lugar a un marcador de autocompatibilidad.....	134

FOTOS

Anejo II :Variedades	149
SEO	151
HENDERSON	151
HARCOT	151
HARGRAND	151
GOLDRICH	152
GINESTA	152
VALENCIANO	152
TADEO	153
CANINO	153
NAVARROS	153
CORBATÓ	153
VELAZQUEZ T.	154
BÚLIDA	154
MONIQUÍ	154
ROUGE DE SERNHAC	155
ROYAL	155
Anejo VI: Síntomas de Sharka y determinación de la resistencia	173
Síntomas sobre ciruelo japonés: Hojas y fruto	175
Síntomas sobre ciruelo europeo: Hojas y fruto.....	176
Síntomas sobre melocotonero: Fruto y Hojas.....	177
Síntomas sobre albaricoquero: Hojas y fruto.....	178
Foto VI.1.- Vista general invernadero. Plantas GF-305.....	179
Foto VI.2.- Injerto en chapa del híbrido Goldrich x Valenciano sobre melocotonero GF-305.....	179
Foto VI.3.- Híbrido Goldrich x Valenciano mostrando síntomas de Sharka en el patrón y en la variedad.....	180
Foto VI.4.- Híbrido Goldrich x Valenciano mostrando síntomas de Sharka	180