

Tadeo, Francisco R. ● Cercós, Manuel ● Colmenero-Flores, José Manuel ● Domingo, Concha Iglesias, Domingo J ● Terol, Javier ● Talón, Manuel

APLICACIONES DE LA GENÓMICA AL ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DE LOS CITRICOS Y DEL ARROZ, DOS ESPECIES DE INTERÉS AGRONÓMICO EN LA COMUNIDAD VALENCIANA

Centro de Genómica
Instituto Valenciano de
Investigaciones Agrarias
Moncada (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La mejora en la práctica y desarrollo de la Agricultura está estrechamente ligada a la aparición, bien sea fortuita o provocada, de nuevas características de interés, y a su posterior selección. Por ejemplo, que unas plantas crezcan más rápido que otras, o que vivan más tiempo sin ser regadas, o que el tamaño de su fruta sea mayor, o que su parte comestible sea más sabrosa, son características deseables y que sin duda fueron seleccionadas con un claro interés. Las conclusiones que se obtienen al estudiar estos hechos, tanto desde un punto de vista meramente descriptivo como utilizando herramientas sofisticadas para su caracterización, han permitido generar un conocimiento nuevo a partir del cual se han desarrollado prácticas culturales cada vez más adecuadas a nuestros intereses. Un ejemplo claro de esta idea es el caso de la aplicación de giberelinas (ácido giberélico, GA3) en los cítricos para mejorar el cuajado y la producción, tal como ha investigado nuestro equipo. Gracias al uso de diferentes técnicas hemos podido determinar que el ovario de algunas

RESUMEN

La biotecnología actual ha puesto al servicio de la Agricultura una batería de herramientas moleculares fiables y muy poderosas, que pueden revolucionar el cultivo de las especies de interés agrícola tal como lo entendemos en la actualidad. La adquisición y la utilización de estas tecnologías nos permitirá generar el conocimiento teórico-práctico necesario para optimizar el cultivo, producción y calidad de los productos actuales. Con este fin, el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias ha creado el Centro de Genómica. En este Centro se desarrolla un amplio abanico de técnicas de fisiología, bioquímica, biología molecular y genómica con el objetivo de estudiar la biología del arroz y de los cítricos, dos especies de interés agrícola en la Comunidad Valenciana.

Abstract

Biotechnology is currently offering to Agriculture a broad set of reliable and powerful molecular tools that could lead to a revolution of the crop cultures. The knowledge and use of these technologies will allow us to generate the theoretical and practical background needed to optimize the culture, yield and quality of the crops. With this purpose, the Valencian Institute for Agricultural Research (IVIA) has created the Genomics Center. A wide range of physiological, biochemical, molecular and genomic techniques are being developed in this center in order to study the Biology of citrus and rice, two species of major interest in the Valencian Community.

variedades de mandarinas, como por ejemplo la Clementina de Nules, no produce suficientes giberelinas activas durante la apertura de la flor para estimular eficazmente el cuajado (Talón y cols. 1990, 1992, 1999). Esta observación experimental ha constituido el soporte científico necesario para determinar el papel de las fitohormonas, en concreto de las giberelinas, en el cuajado del fruto de los cítricos y, al mismo tiempo, también ha supuesto la base para recomendar a los agricultores la aplicación selectiva de GA3 con el fin de mejorar las cosechas. Profundizando en estos estu-

dios, hemos aislado varios genes responsables de la síntesis de giberelinas. Uno de estos genes, CcGA20-oxi, ha sido introducido de nuevo en el portainjerto citrange Carrizo para potenciar o reducir su expresión, y nos ha permitido comprobar que podemos modular el crecimiento de las plantas, hacerlas "gigantes" o "enanás", incrementando o reduciendo, respectivamente, la presencia de giberelinas en las células (Vidal y cols., 2002; Fagoaga y cols., 2003). Estas observaciones demuestran que estamos en el umbral de numerosas aplicaciones insospechadas del conocimiento

científico a la optimización de las prácticas culturales en Citricultura.

Las nuevas tecnologías que se están desarrollando en el área de la Biología se basan, en gran parte, en el conocimiento que aporta la genómica. En su vertiente académica y desde una óptica formal, podemos afirmar que la finalidad de la genómica es doble. Por una parte pretende conocer la estructura génica, es decir la secuencia, el orden y disposición de los genes en el genoma de un determinado organismo. Por otra, intenta desentrañar la función de cada uno de estos genes. La información que se deriva de la genómica permite aproximaciones globales al funcionamiento de los seres vivos y como fin último persigue su comprensión. De este mismo enunciado se puede deducir, por tanto, el inmenso potencial que posee esta información y predice, también, las numerosas aplicaciones que desde un punto de vista práctico se derivan directamente de la misma. Así, el conocimiento de la secuencia genómica de un vegetal y del análisis funcional de los genes que la integran proporcionará las bases para un progreso rápido en diversas áreas de la investigación aplicada. La publicación de las secuencias de los genomas de la mitocondria (Unsheld y cols., 1997) y del cloroplasto (Sato y cols., 1999) de *Arabidopsis thaliana*, la planta modelo más utilizada en la experimentación en Biología Vegetal, culminada con la secuenciación de su ADN nuclear (Arabidopsis Genome Initiative, 2000), ha abierto la puerta a la comprensión de cómo está estructurado el genoma de las plantas, de cuantos y de qué genes cuentan para sobrevivir, y de qué manera se manifiestan o se expresan globalmente estos genes a lo largo de un proceso biológico concreto.

Recientemente, ha sido completada la secuenciación del genoma de las dos subespecies de arroz más extendidas en el mundo, la india y la japónica (Yu y cols., 2002; Goff y cols., 2002). El gran esfuerzo e inversión económica que supone la secuenciación por duplicado del arroz es indicativo de la potencialidad científica y económica que supone este conocimiento y, además, es el resultado del desarrollo de extensos programas de investigación financiados por varios gobiernos, así como por empresas privadas y fundaciones sin ánimo de lucro. El conocimiento de la secuencia del arroz, como modelo de cereales, está asociado tanto al desarrollo de los numerosos marcadores que se utilizan en los programas de mejora como también a la generación de extensas colecciones de mutantes con caracteres agronómicos mejorados. A éstas secuencias seguirán las de otros genomas cuyos Programas de Secuenciación y Análisis Funcional han comenzado ya a desarrollarse (Plant Genome Databases: <http://www.hgmp.mrc.ac.uk/GenomeWeb/plant-gendb.html>). La Comunidad Valenciana se ha unido a éstas iniciativas genómicas y varios centros de investigación radicados en la provincia de Valencia, como el Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), el Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas "Eduardo Primo Yúfera" (IBMCP) y el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), a través del Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología y del Centro de Genómica (Figura 1), están desarrollando ya el Proyecto de Genómica Funcional de Cítricos, financiado a nivel local por la Conselleria d'Agricultura, Peixca i Alimentació y a nivel estatal por el Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Además, estas insituciones están promoviendo el Proyecto Internacional de Secuenciación del Genoma de los Cítricos (Iglesias y Talón, 2003).

El análisis estructural de los genomas vegetales está basado en la aplicación de diferentes aproximaciones metodológicas tales como la generación de ADNs marcadores, la construcción de genotecas genómicas (conjunto de fragmentos de ADN nuclear de gran tamaño), la generación de mapas físicos de los genomas y la secuenciación de los mismos. El primer paso para la caracterización estructural de un genoma consiste en generar mapas genéticos en los que se encuentren integrados el mayor número posible de ADNs marcadores. El segundo paso consiste en alinear (ordenar) los clones genómicos (las secuencias) en función de la información facilitada por los ADNs marcadores. El sistema de clonación (de conservación o almacenamiento de las secuencias) más utilizado para la construcción de genotecas genómicas es el sistema de cromosomas artificiales de bacterias o BAC (Bacterial Artificial Chromosome; Shizuya y cols., 1992). El ADN presente en cada clon BAC puede utilizarse directamente para la secuenciación (la lectura ordenada). La secuencia de nucleótidos (cada una de las unidades que componen un ácido nucleico) obtenida puede analizarse con la ayuda de potentes herramientas informáticas y, mediante la comparación frente a otras secuencias conocidas, podremos llegar a clasificar los genes que la integran y a asignarles una posible función. A este proceso se le denomina anotación funcional y constituye una fuente de información muy interesante para realizar el análisis funcional del genoma.

El análisis funcional de los genomas puede basarse bien en la información estructural de los genes que lo componen (si es que ese genoma está ya secuenciado), o bien en la información obtenida a partir del análisis de secuencias génicas expresadas o análisis de ESTs (Expressed Sequence Tags). El análisis de ESTs permite caracterizar una amplia colección de secuencias de ADN que provienen bien de genotecas de ADN complementario (ADNc) originadas a partir de ARN presente en uno o varios órganos de plantas cultivadas en diferentes condiciones (Adams y cols., 1991), o bien de la utilización de otras técnicas como el differential display, la hibridación substractiva o la amplificación selectiva de fragmentos génicos (cDNA-AFLP). Este tipo de análisis refleja la variedad de genes que se están expresando en cada órgano de la planta, aunque también podemos llegar a tener una idea aproximada de su abundancia en función de la frecuencia de aparición de cada secuencia. Los métodos utilizados hasta ahora para determinar en qué magnitud se activa o se reprime la expresión génica solamente permitían analizar un gen cada vez. En la actualidad existen otros métodos, como la hibridación de macro o de micromatrices de ADNc o de oligonucleótidos (fragmentos cortos de nucleótidos específicos de un gen), con los que visualizar el "transcriptoma" de una planta y ver cómo distintos grupos de genes que puede utilizar una planta se "encienden" (activan) o se "apagan" (desactivan) durante un proceso fisiológico o en respuesta a un estímulo (Schena y cols., 1995; Lockhart y cols., 1996; Celis y cols., 2000). La tecnología de las micromatrices está basada en la hibridación del ADN (en la posibilidad de que dos secuencias complementarias

de ADN se reconozcan y se unan entre sí) y combina la miniaturización y la aplicación de sustancias marcadoras fluorescentes que absorben y emiten luz a longitudes de onda diferentes. Las colecciones de ESTs pueden imprimirse en un soporte físico formando una matriz ordenada. Si tenemos en cuenta que cada punto de esa matriz (que corresponde a un EST de la colección) puede estar separado de otro por una distancia de entre 100-250 μ m (milésimas de milímetro), podemos fácilmente imaginar que en una superficie muy reducida tendremos representados todos nuestros ESTs. En general, las micromatrices de ADNc se fabrican sobre superficies de vidrio similares en tamaño a los portaobjetos utilizados en microscopía óptica. Una vez preparada la muestra problema de ADN, formada por dos grupos de ARNs marcados con un compuesto fluorescente diferente, realizamos la hibridación con el ADNc depositado en la micromatriz y visualizamos el resultado con la ayuda de cámaras CCD e instrumentos de escaneado confocal. Los datos resultantes del análisis de la micromatriz son, a continuación, almacenados, corregidos y tratados mediante programas estadísticos específicamente diseñados para esas tareas.

La comunidad científica dispone ya de los primeros resultados de este tipo de análisis funcional, con ejemplos que van desde el estudio de los genes implicados en la producción de las sustancias aromáticas características de la fresa (Aharoni y cols., 2000) al estudio de los genes relacionados con la resistencia a agentes patógenos (Maleck y cols., 2000) o con la tolerancia a la salinidad (Bohnert y cols., 2001). La adquisición y la utilización de esta tecnología para el estudio de las especies

que nos interesan, que se cultivan y generan riqueza en la Comunidad Valenciana, como son el arroz y los cítricos, nos permitirá avanzar aún más en el conocimiento teórico-práctico necesario para optimizar su cultivo, su producción y su calidad.

La labor investigadora del Centro de Genómica del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias está centrada en las siguientes líneas de investigación (Figura 2):

- 1). Fisiología y Metabolismo.
- 2). Biología del Arroz.
- 3). Estrés abiótico.
- 4). Maduración y calidad de la fruta.
- 5). Crecimiento y desarrollo.
- 6). Obtención de variedades.
- 7). Bioinformática.

El Laboratorio de Fisiología y Metabolismo dispone de instrumentación específica (equipos de cromatografía de gases, de cromatografía líquida de alta presión y de espectrometría de masas) con la que detectar y cuantificar la presencia de diferentes compuestos, tales como hormonas vegetales, carbohidratos, pigmentos, ácidos orgánicos o vitaminas, en una muestra vegetal. Además de complementar los estudios fisiológicos que surgen en otros proyectos de Biología Molecular y Genómica que se desarrollan en el Centro, se ocupa de estudiar diferentes aspectos relacionados con el crecimiento de los cítricos, tales como:

- a). La Fisiología de la reproducción: la alternancia, el desarrollo del fruto y la maduración.



Figura 1. Vista general del edificio del Centro de Genómica del I.V.I.A. y detalles de las instalaciones. Personal adscrito a las líneas de trabajo en arroz y en cítricos. De izquierda a derecha y de arriba abajo: Javier Agustí, Francisco Tadeo, Isabel López, Ana Almenar, Manuel Talón, Javier Terol, Isabel Sanchis, Elena Blázquez, Enriqueta Alós, Manuel Cercós, Guillermo Soler, José-Manuel Colmenero, Domingo Iglesias, Concha Domingo, Angel Boix, Matilde Sancho y Javier Brumós.



Figura 2. Objetivos de las líneas de investigación del Centro de Genómica del I.V.I.A. enmarcadas en el estudio de la biología del arroz y de los cítricos.

POWELL SUMMER NAVEL (P)

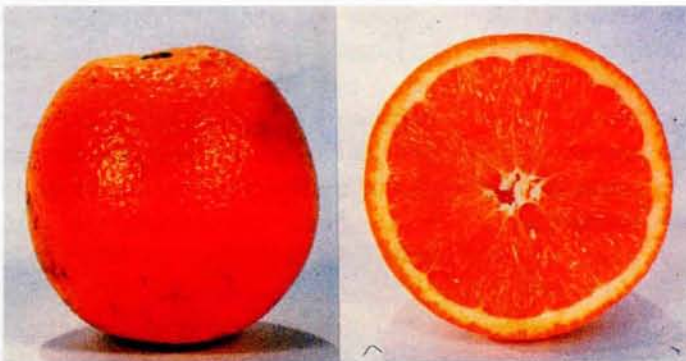
Origen: Mutación espontánea de Washington Navel, descubierta por Neil y Joyce Powell en Australia en el año 1.982. Patentada en E.E.U.U. y Australia por Irwin&Richards y en la Unión Europea por AVASA (Sol. nº 98/1359).

Árbol: Similar a Lane Late. Ramas principales extendidas. Hojas cóncavas, onduladas, peciolo no alados o rudimentarios y pequeños. Inflorescencia: simples y arracimadas. Flores con anteras de color amarillo pálido, estilos completos, no producen polen viable.



Árbol madre de Powell Summer Navel

Fruta: Achatado a ovoide, de color naranja, sin aureola; siempre presenta ombligo visible, sin semillas, gran calidad. Zumo bajo en acidez, con elevado contenido en azúcares, de color amarillo a naranja, y por su bajo contenido en limonina no desarrolla el característico sabor amargo como otras variedades del grupo Navel. Piel fina, glándulas de aceites esenciales visibles, adherencia a la pulpa moderada.



Se descubrió en Australia, como Lane Late, y se diferencian fundamentalmente en que los frutos de Powell Summer Navel mantienen muy firme su textura, con menor reverdecimiento en verano, y conservan su elevada calidad incluso después de alcanzar su maduración, lo que posibilita su recolección y comercialización al menos un mes más tarde que Lane Late.

Fuente: Comunicación personal de Peter Gallasch, de Australia, Rafael Bono (I.V.I.A) y observaciones personales en Australia, California y España. F. Llatser (AVASA). 01/07/02.

(P) Variedad protegida



Flores y frutos

En ensayos recientes realizados en Australia y California, los frutos de Powell Summer Navel(P) destacan por no granularse ni siquiera después de su maduración, a diferencia de Lane Late y otras selecciones de Navel tardía que ocasionalmente se comportan muy sensibles a la granulación.

Interés comercial: La mejor calidad de fruta para el consumo en fresco, principal destino de la producción española, se obtiene con variedades de naranja del grupo Navel. Nuestra actual estructura varietal, permite prolongar la recolección desde noviembre, con Navelina y W. Navel, hasta Abril con Navelate y Lane Late. De éstas 2 últimas variedades se producen en España unas 350.000 toneladas/año de fruta, representando solo el 13% del total de naranjas, lo que permite aumentar su producción prolongando hasta Mayo o Junio la campaña comercial con Powell Summer Navel(P), que sin lugar a dudas reemplazará parcialmente a la Valencia Late, por mejorarla en calidad.

En Australia Powell Summer Navel es la "Navel de verano" que se cultiva en mayor extensión, exportándose con éxito a los E.E.U.U. En California, a pesar del royalty de 1,5 US\$ por planta que pagan los productores, ya se han comercializado más de 500.000 plantones, siendo también la Navel de verano más cultivada, y se estima llegarán a 1.000.000 plantas en los próximos años. En España ya existe una gran demanda de plantones Certificados de ésta variedad, únicos que ofrecen total garantía sanitaria y varietal exclusivamente a través de:

EXIJA PLANTONES CERTIFICADOS CON SU ETIQUETA OFICIAL



Licenciatario exclusivo en la Unión Europea y otros países:

AGRUPACIÓN DE VIVERISTAS DE AGRIOS, S.A.
Pda. Torrasa, Camino Estopet, s/n.- Apdo. 20
12.570-ALCALÁ DE XIVERT (Castellón)
Tel.: +(34) 964.761.168 ;
Fax: +(34) 964.761.068 ;
E-mail: vavasa@terra.es



Sublicenciatarios exclusivos en España:

Viveros Alcanar, S.A.T., Pascual Hermanos, S.A.,
Viveros Etasa, S.L., Viveros Centrals, S.A.T.,
Viveros Sevilla, S.A., Beniplant, S.L.,
Viveros Gurbí, S.A.T., Viveros Citroplant, S.L.
Viveros Valencia, S.A.T., Vivercitrus 2000, S.L.
Viveros Gregal, S.L.,

b). Desarrollo vegetativo, actividad fotosintética e intercambio gaseoso.

c). El efecto del estado nutricional sobre la abscisión del fruto.

d). El efecto de los entornos adversos (sequía y salinidad) sobre el desarrollo vegetativo y reproductivo.

e). El efecto de la sobre-expresión de genes de la biosíntesis de hormonas en los cítricos.

f). Las respuestas vegetativas y reproductivas de los cítricos a diferentes tratamientos agronómicos.

Los objetivos científicos del *Laboratorio de Biología del Arroz* se centran en atender las principales demandas del sector arrocero valenciano utilizando diferentes técnicas de Biología Molecular, Genómica y Cultivo de Tejidos Vegetales. Sus objetivos están encaminados a incorporar a la planta características deseables por los agricultores, desde una mayor altura y robustez del tallo para evitar el encamado hasta aumentar la ramificación del tallo con el fin de incrementar la producción, sin afectar a otras características deseables del cultivo. En los últimos años han sido identificados una serie de genes de diferentes especies que están implicados en procesos fisiológicos y morfogenéticos. La alteración de su expresión induce modificaciones en algunos de los caracteres arriba citados, ofreciendo ventajas agronómicas para la planta. El laboratorio plantea estudiar la regulación genética del crecimiento y desarrollo del tallo mediante:

a). La identificación y el aislamiento de genes de arroz con

similitud de secuencia a genes de otras especies cuya alteración de expresión produce enanismo, robustez o formación de meristemas axilares.

b). El diseño y la generación de plantas de arroz que expresen constitutivamente o localmente los genes seleccionados en el apartado anterior.

La actividad del *Laboratorio de Estrés Abiótico* se centra en los siguientes objetivos:

a). Entender los mecanismos moleculares, bioquímicos y fisiológicos empleados por plantas de interés agronómico, especialmente los cítricos, para responder y aclimatarse a las condiciones de estrés medioambiental que más impactan en la productividad de dicho cultivo en la cuenca mediterránea: la salinidad, el déficit hídrico y la clorosis férrica. En los cítricos se ha podido asociar claramente la tolerancia a la salinidad con la capacidad de limitar el paso del anión cloruro (Cl⁻) desde la raíz a la parte aérea. Para entender este mecanismo a nivel molecular y para poder manipularlo con vista a la obtención de portainjertos tolerantes a salinidad, se están caracterizando los genes relacionados con la captación de Cl⁻ (desconocidos en el reino vegetal) y su transporte en la planta.

b). Diseñar herramientas que permitan identificar a los agentes abióticos que estén limitando el desarrollo de cultivos de cítricos. Mediante técnicas de genómica funcional se están identificando los genes cuya inducción está claramente asociada a las condiciones de estrés abiótico

descritas. Los genes más representativos de dichas respuestas se emplearán en la generación de chips de diagnóstico.

c). Emplear la transformación genética en cítricos con una doble finalidad: i) la caracterización funcional de genes de respuesta a estrés y ii) la obtención de portainjertos de interés comercial mejorados en cuanto a deficiencias puntuales, sin que se vean afectadas las propiedades agronómicas que los caracterizan.

El Laboratorio de Maduración y Calidad de la Fruta está aplicando las técnicas de Genómica Funcional para recopilar y analizar nueva información sobre los procesos fisiológicos que regulan la maduración, tanto externa como interna, y determinan la calidad del fruto en los cítricos. Su objetivo principal es conocer los genes implicados en la maduración de los frutos y el control de su expresión con el fin de identificar aquellos procesos fisiológicos susceptibles de ser manipulados con objeto de mejorar la calidad de la fruta. Para conseguirlo, se está trabajando en:

a). La generación de genotecas de ADNc de distintas partes del fruto de clementinas en distintas fases del desarrollo y de la maduración.

b) La generación de una colección de ESTs a partir de las anteriores genotecas y la impresión de macro y micromatrices de ADNc.

c). La identificación, mediante análisis de macro y micromatrices de ADNc, de genes asociados al proceso de madura-

ción externa y el estudio de su regulación hormonal.

d) La identificación, mediante análisis de macro y micromatrices de ADNc, de genes asociados al proceso de maduración interna.

e). El estudio de la expresión de los genes que codifican enzimas implicadas en el cambio de color de la corteza (clorofilasa, clorofila sintasa, fitoeno sintasa y lycopeno β -ciclase) durante la maduración externa y el estudio de su regulación hormonal.

f). El estudio de la expresión de los genes que codifican enzimas implicadas en el metabolismo del ácido cítrico (citrato sintasa y aconitasa) y de transportadores de azúcares y agua durante la maduración interna.

El Laboratorio de Crecimiento y Desarrollo centra su trabajo en diferentes aspectos relacionados con la producción y el crecimiento de los cítricos. El periodo de cuajado del fruto de los cítricos está caracterizado por el desprendimiento de un número variable de flores y de ovarios en crecimiento, fenómeno que se denomina abscisión. Este proceso, la abscisión, adquiere pues una especial relevancia debido a las repercusiones económicas y comerciales que tiene para el agricultor. Si la abscisión es masiva la cosecha será escasa, mientras que si cuaja un número excesivo de frutos su tamaño final no alcanzará el calibre comercial adecuado. La maduración debilita la fuerza con la que los frutos están unidos al árbol. Si por razones comerciales es necesario retrasar la recolección, las posibilidades de desprendimiento de la fruta aumentan y el volumen de la cosecha puede verse así comprometido. Además, las condiciones

medioambientales adversas también inciden sobre el proceso de abscisión: la falta de agua (estrés hídrico) o el exceso de sales en el suelo (estrés salino), son condiciones a las que los cítricos se enfrentan a menudo y suelen provocar el deterioro de hojas y frutos produciéndose, en último término, su abscisión. Por otra parte, la comprensión de los procesos que intervienen tanto en el crecimiento y en la ramificación del sistema radicular de los cítricos como en el crecimiento del ovario y del fruto es de vital importancia para optimizar su cultivo. En este contexto, los objetivos del laboratorio son los siguientes:

a). Estudiar los fundamentos fisiológicos y moleculares del proceso de abscisión en cítricos inducido por condiciones de cultivo adversas (estrés hídrico y salino).

b). Analizar, mediante la utilización de macro y micromatrices de ADNc, la expresión génica en las zonas de abscisión de las estructuras reproductivas de cítricos durante la fructificación.

c). Analizar el transcriptoma de las células de la pared del ovario durante los procesos de cuajado y de abscisión en mandarinos y naranjos dulces.

d). Caracterizar, desde un punto de vista molecular, la formación de las zonas de abscisión de los cítricos.

e). Estudiar cómo controlan las hormonas, tanto las giberelinas como las auxinas y el etileno, el crecimiento de la raíz del portainjerto citrange Carrizo mediante análisis de tipo anatómico y molecular.

Dado el interés prioritario que tiene para la investigación actual en

el campo de la agricultura, el *Laboratorio de Obtención de Variedades* se ocupa de la generación y caracterización de colecciones de posibles mutantes que o bien ya han sido generadas o bien se están obteniendo en la actualidad gracias al desarrollo de varios programas de mutagénesis en cítricos y en arroz. Estos estudios tienen dos finalidades complementarias. Por un lado, se persigue encontrar características novedosas o ventajosas desde un punto de vista agronómico, con el fin de obtener de forma rápida material vegetal mejorado y, por otro lado, constituyen sistemas modelo únicos que permiten, al mismo tiempo, el aislamiento y el estudio de genes de cítricos y de arroz de interés agronómico. Sus objetivos generales son:

a). La obtención de colecciones de mutantes con fenotipos de interés agronómico y fisiológico.

b). La evaluación agronómica de los mutantes obtenidos.

c). La selección de las mutaciones de interés.

d). La caracterización molecular, celular y fisiológica de las mutaciones seleccionadas.

e). La identificación de las mutaciones mediante técnicas genómicas y moleculares.

El *Servicio de Bioinformática* tiene como función proporcionar apoyo a los diferentes grupos de investigación en cualquier aspecto relacionado con el análisis de secuencias, micromatrices de ADNc, etc. Una de las principales funciones del grupo es el mantenimiento de una base de datos de secuencias de cítricos, que se actualiza periódicamente. Sus miembros poseen gran

experiencia en Genómica Funcional y Genómica estructural. En el área de Genómica Estructural, se dominan aspectos tales como:

- Secuenciación de ADN
- Ensamblaje de secuencias, obtención de consensos
- Identificación de las pautas de lectura abierta (ORFs)
- Búsqueda de similitudes
- Análisis evolutivo
- Genómica comparada

En el área de Genómica Funcional, los principales trabajos están relacionados con:

- Ensamblaje de ESTs
- Búsqueda de similitudes
- Diseño de macro y micromatrices de ADNc
- Análisis de macro y micromatrices de ADNc

En resumen, la tecnología actual está poniendo al servicio de la Agricultura una batería de herramientas moleculares que en su conjunto poseen una gran capacidad para obtener información y un potencial amplio para mejorar productos actuales o producir nuevas selecciones de vegetales de interés comercial. Algunas de estas herramientas son la hibridación de micromatrices de ADNc, el diseño de robots, que permiten tanto la manipulación automática de una gran cantidad de muestras vegetales como la automatización de protocolos de trabajo, programas informáticos para tratar adecuadamente

la información que puede generarse, la transformación genética, la mutagénesis... etc. La adquisición y la utilización de estas tecnologías en la Comunidad Valenciana permitirá generar el conocimiento teórico-práctico necesario para optimizar el cultivo de los cítricos y del arroz. Con estos fines, el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias ha creado el Centro de Genómica. En este Centro se desarrolla un amplio abanico de técnicas de fisiología, bioquímica, biología molecular y genómica con el objetivo de responder a los problemas a los que se enfrenta la Agricultura valenciana. Esta labor no solamente necesita el apoyo y la ayuda de los organismos públicos, como la Conselleria d'Agricultura, Peixca i Alimentació, sino que también sería interesante que otras instituciones de ámbito privado tomaran conciencia de su importancia. La creación de nuevos programas de financiación de proyectos de investigación y de formación de personal investigador podría aportar el impulso necesario para mantener la rentabilidad del campo valenciano en los años venideros.

BIBLIOGRAFÍA

ADAMS, M.D. y otros (1991). Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science* 252, 1651-1656.
 AHARONI, A. y otros (2000). Identification of the SAAT gene involved in strawberry flavor biogenesis by use of DNA microarrays. *Plant Cell* 12, 647-661.
 ARABIDOPSIS GENOME INITIATIVE (2000). Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408, 796-815.
 BOHNERT H.J. y otros (2001). A genomic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiol. Biochem.* 39, 1-17.
 CELIS, J.E. y otros (2000). Gene expression profiling: monitoring transcription and translation products using microarrays and proteomics. *FEBBS Lett.* 408, 2-16.
 FAGOAGA, C., VIDAL, A.M., PINA, J.A., LLISO, I.,

TADEO, F.R., TALÓN, M., GARCÍA-MARTÍNEZ, J.L., NAVARRO, L., PEÑA, L. (2003). Engineering of gibberellin levels in citrus by sense and antisense overexpression of a GA20-oxidase gene modifies plant architecture. 7th International Congress of Plant Molecular Biology, S10-78. Barcelona (Spain).
 GOFF, S.A. y otros (2002). A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica). *Science* 296, 92-100.
 IGLESIAS, D.J., TALÓN, M. (2003). Fundación de Consorcio Internacional del Genoma de los Cítricos. *Agrícola Vergel* 257, 309-312.
 LOCKHART, D.J. y otros (1996). Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. *Nature Biotechnol.* 14, 1675-1680.
 MALECK, K. Y otros (2000). The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. *Nature Genet.* 26, 403-410.
 SCHENA, M. y otros (1995). Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270, 467-470.
 SATO, S., NAKAMURA, Y., KANEKO, T., ASAMIZU, E., TABATA, S. (1999). Complete structure of the chloroplast genome of *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res.* 5, 283-290.
 SHIZUYA, H. y otros (1992). Cloning and stable maintenance of 300-kilobase-par fragments of human DNA in *Escherichia coli* using an F-factor-based vector. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 8794-8797.
 TALON, M., HEDDEN, P., PRIMO-MILLO, E. (1990). Gibberellins in *Citrus sinensis*: A comparison between seeded and seedless varieties. *J. Plant Growth Regul.* 9: 201-206.
 TALON, M., ZACARIAS, L., PRIMO-MILLO, E. (1992). Gibberellins and parthenocarpic ability in developing ovaries of seedless mandarins. *Plant Physiol.* 99: 1575-1581.
 TALON, M., JUAN DELHOM, M., SOLER, J., AGUSTÍ, M., PRIMO-MILLO, E. (1999). Criterios de racionalización de las aplicaciones de ácido giberélico para la mejora del cuajado del fruto de los cítricos. *Levante Agrícola* 347, 128-133.
 UNSELD, M., MARIENFELD, J.R., BRANDT, P., BRENNICKE, A. (1997). The mitochondrial genome of *Arabidopsis thaliana* contains 57 genes in 366,924 nucleotides. *Nature Genet.* 1, 57-61.
 VIDAL, A.M., LLISO, I., FAGOAGA, C., TADEO, F.R., GARCÍA-MARTÍNEZ, J.L., PEÑA, L., NAVARRO, L., TALÓN, M. (2002). Modulation of gibberellin content and plant growth in citrus by sense and antisense expression of a gibberellin 20-oxidase gene. 13th FESPP Congress, P54. Hersonissos, Crete (Greece).
 YU, J. y otros (2002). A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. indica). *Science* 296, 79-92.