

Birusen aurkako “gudari irribarratsua”

Ameriketatik etorri eta geure bilakatu

Piperra Ameriketatik ekarritako laborea den arren, egun Euskadin landatutako piper-mota nagusiak, “Gernikako piperra” eta “Ibarrako piparra” (1. irudia), gure baldintza agroklimatikoetara egokituta daude. Gure agrodibertsitatearen parte garrantzitsu dira, eta lurraldearekin oso lotura estua duten produktak bilakatu dira.

Jatorria eta kalitatea ziurtatzen dituzten piperbarietateak dira. Adierazpen Geografiko babestu edo kalitate-aitortzei esker, produktu hauek ekoizten dituzten ustiategiak lehiakorrak dira. Izan ere, kontsumitzaileentzako ezagunak eta preziatuak dira, eta eroslea prest egoten da prezio altuagoak ordaintzeko, hurbiltasuna eta kalitatea adierazten duten piper hauengatik.

Piper-ustiategietako ekoizpenean eta lehiakortasunean, baina, hainbat faktorek eragin dezakete, eta, horien artean, azpimarratzekoak dira landare-osasuneko arazoak; besteak beste, onddo eta birusek sortutako gaixotasunak nabarmendu behar dira. Neurri handi batean, azken hamarkadetan la-

boreetan erabili den ekoizpen-sistema intentsibo konbentzionalak eragin ditu gaitz horiek.

Duela hamarkada bat, lurraldeko piper- eta pipermin-ekoizleak, sektoreko teknikariek batez, administrazio publikoekin eta baratzezaintzako ikertzaileekin harremanetan jarri ziren, beren laboreetan zituzten landare-osasuneko arazo berri emateko, nola aurre egin bilatu nahian. Izan ere, sektorea oso kezkatuta agertu zen gaitz horiek laboreetan eragindako ondorio larriekin, galera handiak sortu baitziren ekoizpenean, ustiategietako ja-sangarritasun ekonomikoa kolokan jarrita (2. irudia).

Bertako piper- eta pipermin-barietateak birusekiko sentikor

Lehenengo eta behin, erabaki zen landareetan gertatzen ari ziren arazoak zein birusek sortzen zituen zehaztea. Horretarako, prospekzio-lanak egin ziren nekazarien piper- eta pipermin-sailtan. Bizkaian eta Gipuzkoan gehien bat, berotegiz berotegi eta baratzez baratze, birus-sintomak zituzten landareak lagindu, eta, ondoren, diagnosi-azterketak

1. irudia. Bertako piper-mota nagusiak. A) Ibarrako pipermina (Ibarroria barietatea) eta B) Gernikako piperra (Derio barietatea). ARG.: NEIKER.



Mikel Ojinaga Juárez
NEIKEReko ikertzailea,
agronomia-ingeniarria eta
Biologian doktorea



egin ziren laborategian. Zazpi birus analizatu ziren, DAS-ELISA bidez, milatik gora landaretan. Anlizatutako birusak honako hauek izan ziren: afidoek transmititutako PVY patataren birusa (*Potyvirus* generokoa), tripsek transmititutako TSWV tomatearen zimeltze tantotuaren birusa (*Orthotospovirus* generokoa) eta *Tobamovirus* generoko bost birus, kontaktuz eta hazi bidez transmititzen direnak. Analizatu ziren tobamobirusak hauek izan ziren: TMV tabakoaren mosaikoaren birusa, ToMV tomatearen mosaikoaren birusa, TMGMV tomatearen mosaiko berde arinaren birusa, PaMMV piper gorriaren tanto arinaren birusa eta PMMoV piperraren tanto arinaren birusa.

Horrela, piper-landareetan presente zeuden birus agente nagusiak ezagutu ziren. Birus batzuk berotegietako landareetara hertsiki lotuta azaldu ziren, eta beste batzuk aire libreko landareetan garatu ziren gehiago; batzuk intsektuek transmititutakoak ziren, eta besteak hazitik landarera transmititzen ziren. Horrez gain, landareetan kalte larrienak eragiten zituzten birusak identifikatu ziren. Aire libreko landareetan PVY izan zen arazo handienak sortu zituena. Berotegietako landareetan berriz, *Tobamovirus* generoko birusak eta TSWV nagusitu ziren. Análisi guztiak kontuan hartuta, tobamobirusak hartu ziren mehatxu nagusitzat bertako barietateetan, hazitik landarera transmititzen direlako, eta ondoren landareetan kontaktu bidez oso erraz zabaltzen direlako nekazariak landareak manipulatzeko. Hor-taz, fruituen errendimendua eta kalitatea asko murrizten da. Nabarmentzekoa da, orobat, birus horien iraunkortasuna, urte luzez egon daitezkeelako nekazaritza-sailetan modu kutsakorrean.

Oinarrizko arazoa zehaztuta, soluzioa: hobekuntza genetikoa

Tobamobirusek eragindako ziurgabetasunaren aurrean, nahitaezkoa zen birusen kontrolerako ir-



2. irudia. Birusek bertako piper-laboreen hosto eta fruituetan eragindako sintomak. ARG.: NEIKER.

tenbideak bilatzea, eta aukerarik onena zen birus horiekiko erresistentzia-geneak bertako barietate sentikorretan txertatzea eta arazo horiek dituzten landareetan beharrezkoak diren neurri kulturalak ezartzea. Haziak merkaturatzen dituzten enpresak ez dira sekula sartzeko horrelako barietateak hobetzeko inbertsioetan, interes komertzial baxua duten barietateak izaki. Horrelako kasuetan, oso garrantzitsua da ikerkuntza eta teknologia garatzen duten erakunde publikoen papera, euren esku baitago eskala txikian ekoizten diren barietateak hobetzea. NEIKERek heldu zion erronka horri.

Piperraren tobamobirusekiko erresistentzia gene nagusi bakar batek erregulatzen du: τ geneak. Eta hori daramaten hainbat espezie eta barietate aurkitu daitezke *Capsicum* generoan, lau aleloren bidez (L1, L2, L3 eta L4). Bestetik, tobamobirusen artean, zenbait patotipo daude (P0, P1, P1.2 edo P1.2.3), eta τ genearen aleloek eragindako erresistentzia gainditzeko duten gaitasunaren arabera sailkatzen dira. Ondorioz, P0 patotipoa duten birusek ezin dituzte L genea daramaten landareak kutsatu. P1, P1.2 edo P1.2.3 patotipoak dituzten birusek, berriz, L1, L1 eta L2 eta L1, L2 eta L3 aleloak dituzten landareak kutsa ditzakete, hurrenez hurren (1. taula).

τ erresistentzia-gene horiek dituzten barietateek tobamobirusekin kontaktuan jartzen diren puntuan bertan abiatzen dute "erantzun hipersentikorra" deritzon prozesua; leku horretan, landareak zelulen heriotza programatua bultzatzen du eta birusari garatzeko aukerak eragozten dizkio (3. irudia).

2014. urtean egindako prospekzioan, PMMoV tobamobirusarekin kutsatutako 36 lagin τ genearen

alelo ezberdinak zituzten barietateak inokulatu ostean, argi ikusi zen L3 aleloarekin kontrolatu zitezkeela Euskadiko piper-landareari erasotzen dioten tobamobirus guztiak (1. taula). Hala ere, erabaki zen bertako barietate bietan L3 eta L4 geneak era berezian txertatzea, etorkizunean Euskadiko piper-landareetan sar daitezkeen tobamobirus gehiago kontrolatu ahal izateko.

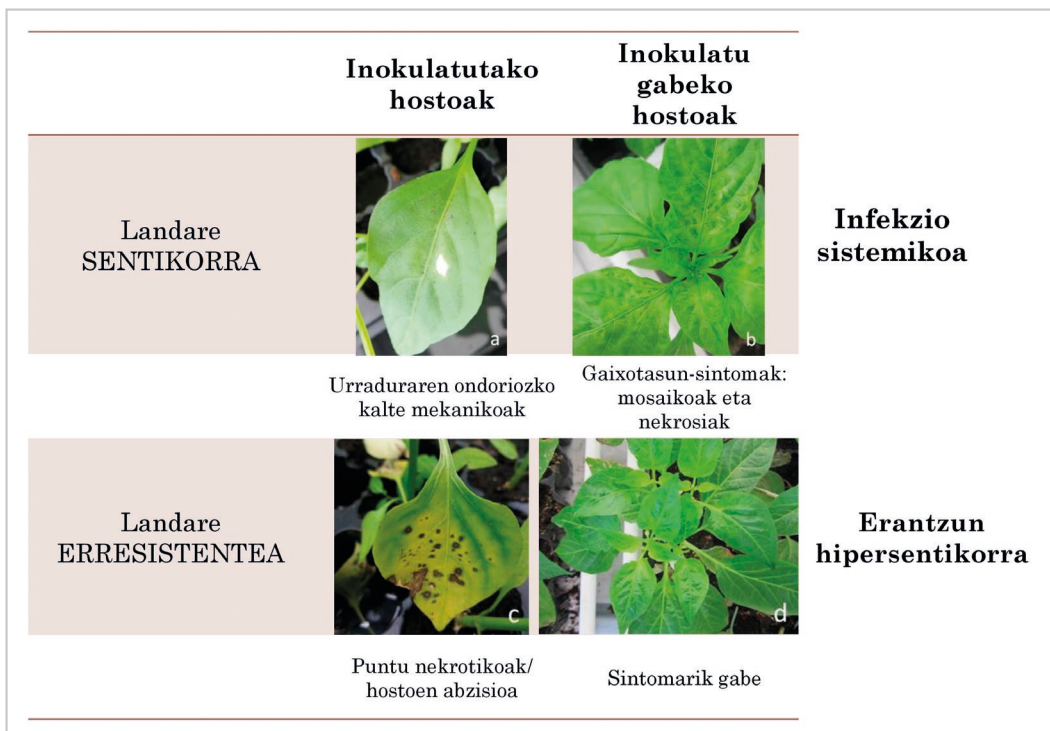
Markatzaile molekularrez lagundutako atzeragurutzaketa programa abian

Gauzak horrela, Mendelen legeetan eta gurutzaketan oinarritutako hobekuntza genetiko klasiko-ko programa jarri zen abian 2015ean, markatzaile molekularrez lagundutako atzeragurutzaketa (MMLAG) bidez (4. irudia). Batetik, piper ama bat, Gernikako piper ederra, kalitatezko labelduna, merkatuan oso preziatua eta gure sukalde eta mahaietan baloratua dena. Bestetik, beste piper ama bat, Ibarrako pipermin fina, bai frijitzeko edo ozpinetan onduta jateko egokia. Barietate biak Italiatik ekarritako piper aita gozoezin gurutzatu ziren, zeinek birusen aurkako erresistentzia genetikoa baitzuten: "Palermo" (L3 genea) eta "Giulio"

	Patotipoak	P0	P1	P1.2	P1.2.3
ISF Kodea		TMV ^a : 0	TMV: 1	PMMoV: 1.2	PMMoV: 1.2.3
Tobamobirusak izendatzeko		ToMV: 0	TMGMV: 1		
		TMGMV: 0	PaMMV: 1		
		BPMoV: 0			
Barietateak	Erresistentzia-geneak				
Calu, Early Calwonder	-	S ^b	S	S	S
Tisana, Yolo Wonder	L1	E	S	S	S
Tabasco	L2	E	E	S	S
Solario F1, Palermo F1	L3	E	E	E	S
Tom4, Giulio F1	L4	E	E	E	E

^a TMV: tabakoaren mosaikoaren birusa; ToMV: tomatearen mosaikoaren birusa; TMGMV: tomatearen mosaiko berde arinaren birusa; BPMoV: pipermorroaren tantoaren birusa; PaMMV: piper gorriaren tanto arinaren birusa; PMMoV: piperraren tanto arinaren birusa. ^b S: sentikorra; E: erresistentea.

1. taula. Piper-barietateetan tobamobirusen patotipo ezberdinekiko aurkitu daitezkeen erresistentzia-geneak. (Iturria: International Seed Federation: ISF; 2012tik moldatuta).



3. irudia. Barietate sentikor eta erresistenteetan tobamobirusak inokulatzean agertzen diren sintoma nagusiak. Landare sentikorrean inokulatutako hostoetan, ez da sintomarik, baina inokulatu gabeko hostoetan gaixotasun-sintomak ikus daitezke. Landare erresistenteetan inokulatutako hostoetan, puntu nekrotikoak eta abzisia azaltzen dira, eta inokulatu gabeko hostoetan landarea osasuntsu ikusten da. ARG.: NEIKER.

(L4 genea). Azken helburua zen oinordetzak amaren itxura eta ezaugarri agronomikoak izatea eta aitaren erresistentzia genetikoa jasotzea. Lehen gurutzaketa hori egiteko, barietate hibrido erresistenteen polena batu zen, eta barietate sentikorraren lore zikiratuetan jarri zen, barietateen arteko gurutzaketa ahalbidetzeko (5. irudia).

Lehenengo gurutzaketa egitean, bertako barietateen genomaren % 50 galdu zen, baina,aldi berean, oinordekatzaren erdiari erresistentzia-genea sartzea lortu zen (3. irudia). Ondoren, atzeragurutzaketetan landare erresistenteak hautatu eta jatorrizko genoma errekuiperatu zen. Landare erresistenteak hautatzeko, erresistentzia-geneei lotutako markatzaile molekularrak erabili ziren hobekuntza-programako belaunaldi guztietan. Horrela, hobekuntza-programan egindako atzeragurutzaketa bakoitzean bertako barietateen genomaren % 50 berreskuratzen denez, lau gauzatu ostean eta interesdun barietateen genomaren ia

% 97 berreskuratu ostean, erabaki zen L3 eta L4 geneak homozigotian txertatuta uztea autopolinizazio biren bitartez (4. irudia). Barietate horiek ez dira transgenikoak, inolaz ere, gurutzaketa eta hautaketa bidez sortutakoak baizik.

Barietate erresistente berriak: GUDARI eta IRRIBARRA

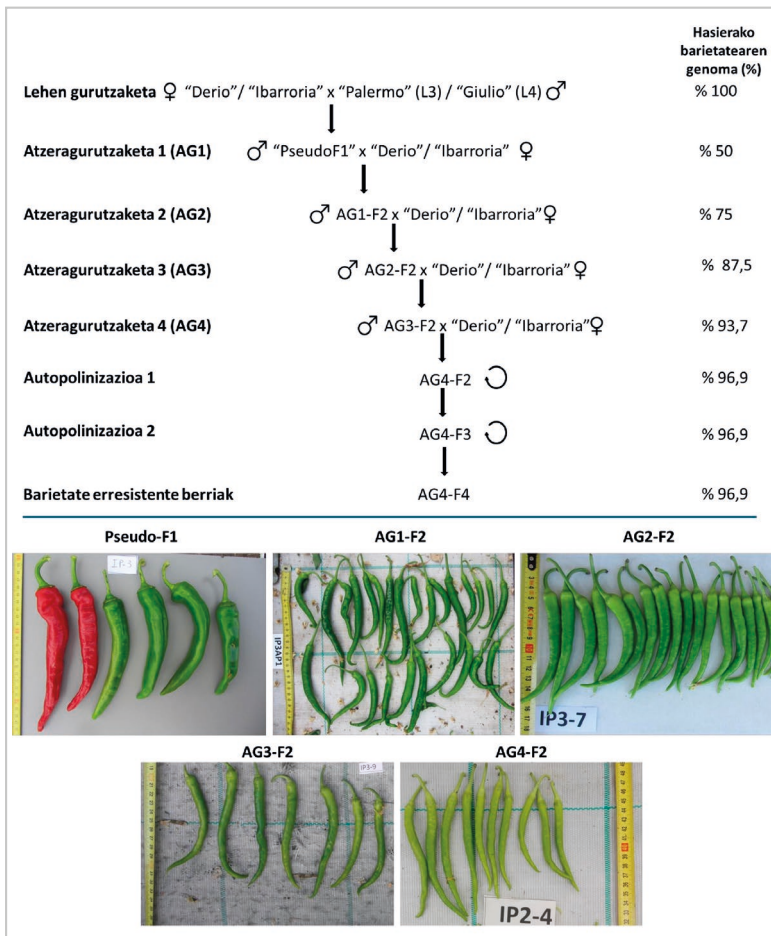
Hobekuntza-programa hauek epe luzeko lana dakarte. Kasu honetan, 7 landare-ziklo behar izan ziren amaren oso antzeko piper eta pipermin erresistenteak lortzeko. Hala ere, Mendelek bere garaian gauzak egiten zituen moduan egin ordez, kasu honetan markatzaile molekularrak erabili dira. Horrela, barietatearen tresna molekularrak garatu eta erabili ziren, oinordetzaren erresistentzia genetikoari buruzko informazioa era arin eta eraginkorrean lortzeko eta prozesua arintzeko. Bestalde, urte bitan, barietate erresistente berrien portaera produktiboa balioztatzen entseguen bidez, eta ikusi zen jatorrizko barietate sentikor bien parean ekoizteko gai zire-

la. Entseguetan, garatutako barietate erresistente emankorrenak hautatu ziren. Gainera, piper horien portaera labore komertzialetan aztertu zen; batez ere, biosi-arazoak zituzten ustiategietan, eta produktibitate- eta erresistentzia-maila altuak jaso ziren. Azkenik, birus-inokulazioak egin ziren, barietate berriak tobamobirusekiko erresistenteak zirela ziurtatzeko. Lortutako Gernikako piper berriari GUDARI izena jarri zitzaion, arazoak konpontzeko behar den lan, bokazio eta grinari erreferentzia eginez. Ibarra pipermin erresistentea ordea, IRRIBARRA izendatu zen, barietate honi etorkizun zorionsu eta emankorra opa baitiogu. Arbasoak kontuan hartuta, gaurko

arazoei eta etorkizuneko soluzioei begira sortutako barietateak dira biak. Baina, erresistentzia denboran iraunkorra izan dadin, baratzetako eta berotegieta-ko birus-karga ahalik eta txikiena izatea komeni da. Hala, higie-ne-praktiken protokolo bat adostu da ustiategietan, birus-karga txikia izan dadin eta birusaren andui berriek erresistentziak iraultzeko arriskua ahalik eta txikiena izan dadin.

Arao berrien konponbidean

Lortu dira tobamobirusen aurka borrokatuko diren bertako piper- eta pipermin-barietateak. Ekoizleen kalteak asko gutxitu dira, eta, horrekin batera, us-



4. irudia. Gernikako piperrean eta Ibarra piperminean tobamobirusekiko erresistenteak diren barietateak lortzeko, markatzaile molekularrekin lagundutako atzeragurutzaketen (AG) bidez gauzaturako hobekuntza-programaren eskema. Hobekuntza genetikoko programa hau 7 belaunaldiz osatuta egon zen: PseudoF1 (bertako barietate sentikorren eta italiar barietateko hibrido erresistenteen arteko gurutzaketa bidez), 4 atzeragurutzaketa eta 2 autopolinizazio. "Derio" eta "Ibarroria" barietate sentikorren "Palermo" eta "Giulio" barietate heterozigoto erresistenteekin gurutzatuz, lau hobekuntza-material desberdin lortu ziren: Ibarra pipermina L3 genearekin, Ibarra pipermina L4 genearekin, Gernikako piperra L3 genearekin eta Gernikako piperra L4 genearekin. Beheko aldean ikusten da nola berreskuratu genituen 4 atzeragurutzaketa eginda Ibarra piparraren ezaugarri morfologikoak. ARG.: NEIKER.

tiategien errentagarritasun ekonomikoa berreskuru da, neurri batean. Hala ere, azken urteetan, labore-azalerak beherantz egin du, bereziki Bizkaian (Gernikako piperrari lotutako azalera izugarri murriztu da). Hemendik aurrera, funtsezkoa izango da nekazaritza-ekoizpenarekin zerikusia duten arazo sozioekonomikoak ere konpontzen joatea, Euskadiko baratze-sektorearen belaunaldi-erreleboa ziurtatu eta etorkizunean herritarren elikagai preziatuen hornidura bermatu ahal izateko. ●



5. irudia. Barietate erresistenteak lortzeko egin beharreko lanak. Polena jasotzen da barietate erresistenteetatik, eta barietate sentikorren loreak polinizatzen dira, horiek zikiratu ostean. ARG.: NEIKER.

Bibliografia

- [1] Tomita R, Murai J, Miura Y, Ishihara H, Liu S, Kubotera Y, Honda A, Hatta R, Kuroda T, Hamada H, et al. Fine mapping and DNA fiber FISH analysis locates the tobamovirus resistance gene L3 of *Capsicum chinense* in a 400-kb region of R-like genes cluster embedded in highly repetitive sequences. *Theor Appl Genet.* 2008;117(6):1107-18. doi: 10.1007/s00122-008-0848-6.
- [2] Tomita R, Sekine KT, Mizumoto H, Sakamoto M, Murai J, Kiba A, Hikichi Y, Suzuki K, Kobayashi K. Genetic basis for the hierarchical interaction between Tobamovirus spp. and L resistance gene alleles from different pepper species. *Mol Plant Microbe Interact.* 2011;24(1):108-17. doi: 10.1094/MPMI-06-10-0127.
- [3] Di Dato F, Parisi M, Cardi T, Tripodi P. Genetic diversity and assessment of markers linked to resistance and pungency genes in *Capsicum* germplasm. *Euphytica.* 2015;204:103-119. doi: 10.1007/s10681-014-1345-4.
- [4] Genda Y, Kanda A, Hamada H, Sato K, Ohnishi J, Tsuda S. Two Amino Acid Substitutions in the Coat Protein of Pepper mild mottle virus Are Responsible for Overcoming the L(4) Gene-Mediated Resistance in *Capsicum* spp. *Phytopathology.* 2007 Jul;97(7):78793. doi: 10.1094/PHYTO-97-7-0787.
- [5] Dombrovsky A, Smith E. Seed transmission of Tobamoviruses: Aspects of global disease distribution. In: *Advances in Seed Biology.* 2017. doi: 10.5772/intechopen.70244.
- [6] International Seed Federation. Differential sets in Tobamoviruses. Nyon (Switzerland). February 2020.

ESKERRAK

Eskerrak eman nahi dizkiet Santiago Larregla nire doktore-tesiaren zuzendariari, lan hau egiteko beharrezko baliabideak lortzeagatik; eta Sorkunde Mendarteri, sari honetan parte hartzera animatzeagatik. Baita Xabi Ojinaga, Aitor Marcos eta Igone Menikari ere, testuan egin dituzten ekarpenengatik.