SELECCIÓN DE PATRONES DE ALBARICOQUERO PROCEDENTES DE PLANTACIONES LOCALES MEDIANTE EL USO DE MICROSATÉLITES

P. Errea, J.I. Hormaza*

Unidad Fruticultura, S.I.A.-D.G.A., Apdo. 727, 50080 Zaragoza, España

* Dirección actual: E.E. la Mayora-CSIC, 29750 Algarrobo-Costa, Málaga, España

RESUMEN

El cultivo del albaricoquero en Aragón se ve altamente limitado por los problemas que presentan los patrones actualmente disponibles para esta especie, y que se centran fundamentalmente en su adaptación a las condiciones del suelo y la frecuente incompatibilidad al injerto con las variedades más interesantes. Con el fin de seleccionar patrones que cumplieran con las características para el cultivo de una de las variedades más apreciadas, la variedad 'Moniquí', se realizó una prospección en una antigua plantación local de esta variedad, y se estableció mediante microsatélites en material cultivado in vitro la identidad de ese material. La identificación molecular ha permitido agrupar el material prospectado en dos grupos con genotipos distintos, y asegurar que uno de ellos pertenece a los ciruelos de crecimiento lento y el otro a los ciruelos de crecimiento rápido. El hecho de haber seleccionado patrones pertenecientes a estos grupos, alguno de los cuales desarrollan muchos problemas de compatibilidad localizada con la variedad 'Moniquí', y que, sin embargo, han desarrollado durante años árboles de esta variedad sin que haya aparecido ningún síntoma de incompatibilidad, hace pensar en la posibilidad de haberse seleccionado naturalmente algún ciruelo procedente de semilla, con las características idóneas para salvar estos problemas. Esto abre las puertas a la posibilidad de recuperar un material vegetal local sobre el que ya se ha realizado una selección empírica lo que puede permitir un relanzamiento en el cultivo de esta especie.

Palabras clave: Albaricoquero, Marcadores moleculares, Microsatélites, *Prunus*, Patrones, Selección.

SUMMARY SELECTION OF APRICOT ROOTSTOCKS FROM LOCAL ORCHARDS USING MICROSATELLITES

Apricot cultivation in Aragón is seriously hampered by the different problems present in the currently available rootstocks for this species. Those problems involve adaptation to particular soil conditions and graft-incompatibility with the most attractive apricot cultivars. The objective of this work was to select appropriate rootstocks for one of the most valued apricot cultivar, 'Moniquí'. Thus, an old local orchard of 'Moniquí' was prospected and selected rootstocks were propagated in vitro. Microsatellite analysis was carried out to establish the identity of the rootstocks selected. Molecular fingerprinting has allowed the grouping of the collected material into two main differentiated groups, slow- and fast- growing plums. Since some of the rootstocks pertaining to these two groups normally show

Teinterese

many compatibility problems with 'Moniqui', the results obtained in this work indicate that probably some plum seedlings with good qualities to become interesting rootstocks for 'Moniqui' have been selected. This opens the way to recover local rootstock genotypes that have gone through an empirical selection process and, consequently, might allow an increase in the extension of apricot cultivation under our environmental conditions.

Key words: Apricot, Molecular markers, Microsatellites, Prunus, Rootstocks, Selection.

Introducción

El albaricoquero (Prunus armeniaca L.) es actualmente uno de los frutales de climas templados más apreciados y sobre el que existe un creciente interés por la importante demanda de sus frutos por parte del mercado, tanto a nivel nacional como europeo. Sin embargo su cultivo se ve limitado por una serie de problemas que se han hecho ya tradicionales en este cultivo y que todavía están pendientes de encontrar solución. Entre ellos está el de su difícil adaptación ecológica en lo que afecta al sistema radicular, por la excesiva sensibilidad a la asfixia radicular y a la podredumbre de raíces de los francos de la especie (Layne et al., 1996) y los problemas de incompatibilidad al injerto que presentan otros patrones con las variedades de mayor interés agronómico y comercial (Crossa - Raynaud y Audergon, 1987).

A pesar de estos problemas, los trabajos disponibles referidos a la mejora de patrones de albaricoquero son escasos (Layne et al., 1996). Los factores indicados anteriormente, adaptación a las condiciones de suelo y solución de los problemas de incompatibilidad al injerto han sido en los que más investigación se ha realizado (Southwick y Weis, 1998). En lo referente a su adaptación al suelo, los aspectos que más se han tenido en cuenta son, fundamentalmente, la textura del terreno, el riesgo de asfixia, la presencia de cal activa y riesgos de enfermedades (Audubert et al., 1994). Y en cuanto a su respuesta al injerto, el problema es la incompatibilidad localizada que presenta esta especie al injertarse sobre un gran número de patrones, y que se produce sin que tengan lugar síntomas externos que manifiesten problemas en la unión. Al final se produce la rotura del árbol por el punto de injerto y esto puede tener lugar tras varios años de crecimiento normal, lo cual dificulta mucho la búsqueda de nuevos patrones y las perspectivas de cultivo (Errea y Felipe, 1993). Actualmente se está procediendo a una renovación varietal de albaricoquero centrada en la obtención de variedades autocompatibles y resistentes a la sharka. Esta renovación varietal y su adaptación a una determinada zona de cultivo pasa inevitablemente por la elección de un patrón adecuado que, sobre todo, sea compatible con las variedades elegidas.

Entre los patrones actualmente disponibles para albaricoquero, es difícil encontrar alguno que cumpla con todas las condiciones ideales para ser un buen patrón. Los más ampliamente utilizados son los francos de albaricoquero y los ciruelos, fundamentalmente Pollizo (P. insititia) y Mirobolan (P. cerasifera). Sin embargo, ambos tipos de patrones presentan problemas. Los francos de la especie presentan muy buena compatibilidad con todas las variedades interesantes, pero su adaptación a determinados suelos, y concretamente a suelos de regadío muy calizos y poco profundos como los que se localizan en Aragón, es muy restringida por la excesiva sensibilidad a la asfixia radicular y a la podredumbre de raíces y cuello causadas por *Phytophtora* y *Armillaria* (Felipe. 1989). Y los ciruelos, tanto de crecimiento rápido, Marianas (*P. cerasifera x P. munsoniana*) y Mirobolanes (*P. cerasifera*), como de crecimiento lento (*P. domestica, P. insititia*), que presentan una buena adaptación a diferentes suelos y buena propagación, presentan el inconveniente de su mala compatibilidad con gran número de variedades, entre ellas las de mayor interés agronómico y comercial (Errea y Felipe, 1998, Pirazzini, 1997).

Entre estas variedades de gran interés económico se encuentra la variedad 'Moniquí', de una calidad excepcional y muy estimada por parte del consumidor. Su origen está en la región de Murcia, pero se extendió a otras zonas, especialmente Aragón y zonas limítrofes de Castilla la Mancha con Murcia. Esta expansión ha permitido corregir uno de sus principales problemas, que es la satisfacción de las necesidades de frío que afectaban a su fructificación (Egea, 1998). Sin embargo, la falta de adaptación a los diferentes tipos de suelos de los patrones utilizados para esta especie y los problemas de incompatibilidad que presenta con muchos patrones ha hecho que su cultivo y expansión se vea altamente restringido. En Aragón, la frecuencia de suelos calizos, con elevado pH, a menudo compactos y fundamentalmente de regadío, con los problemas de asfixia y patógenos que esto conlleva, hace que hoy en día no se pueda contar con un patrón apropiado para estas variedades exigentes, y que además no presente problemas de compatibilidad en la unión.

Sin embargo, la existencia de plantaciones antiguas de albaricoquero en Aragón, muchas de ellas con patrones francos tanto de albaricoquero como de ciruelo, abre la posibilidad de una elección basada en conocimientos acumulados, ya que sobre dichos patrones se ha producido ya una selección, tanto para compatibilidad de injerto en los ciruelos, como para asfixia en los francos de albarico-quero en suelos con esta problemática.

Las nuevas herramientas que nos ofrece la biotecnología pueden ser extremadamente útiles en estos estudios de recuperación de patrones interesantes de plantaciones antiguas. Por un lado, la posibilidad de utilizar marcadores moleculares para caracterizar e identificar el material vegetal en especies leñosas permite actualmente la identificación objetiva e inequívoca del material vegetal (Hormaza, 1996; Hormaza et al., 1998). De los marcadores moleculares utilizados en especies frutales, los microsatélites presentan una serie de ventajas, fundamentalmente en lo que respecta a su mayor repetibilidad y su facilidad de aplicación (Wünsch y Hormaza, en prensa). Estos son repeticiones de 2, 3 ó 4 nucleótidos presentes en distintas regiones del genoma de todos los organismos. El número de repeticiones puede variar entre genotipos de una especie y se puede detectar mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Por otro lado, los métodos de cultivo in vitro permiten propagar el material vegetal recolectado y obtener planta en un tiempo más breve que si la propagación se realizara por métodos tradicionales. Combinando ambas técnicas, es posible realizar la identificación de estos patrones en una fase temprana de su desarrollo, lo que resulta de gran interés para la selección e identificación de estos patrones a corto plazo.

Por lo tanto, con el fin de seleccionar patrones que cumplieran con las características de buena adaptación a suelos de regadío y buena compatibilidad con la variedad 'Moniquí', se realizó una prospección en una plantación de esta variedad, se propagó el material vegetal recolectado mediante técnicas in vitro y se comprobó mediante técnicas moleculares la identidad de ese material.

Material y métodos

Material vegetal

El material vegetal se obtuvo de una plantación de 'Moniquí' de más de 20 años, situada en la zona de Garrapinillos en la provincia de Zaragoza, donde se efectúa un riego a manta. Las muestras que se obtuvieron, consistentes en brotes de la raíz de los patrones, se establecieron en cajonera y se propagaron vegetativamente, con el fin de realizar sobre ellos un estudio de comportamiento en campo. El material fue testado para los virus ACLSV, PDV y PNRSV, con lo que se aseguró su estado sanitario para futuros ensayos de comportamiento.

Los genotipos de ciruelo que se utilizaron como control para la comparación con las muestras problema fueron los siguientes:

Ciruelos de crecimiento lento:

- Puebla de Soto (*P. insititia*)
- Montizo (P. insititia)

Ciruelos de crecimiento rápido:

- Mariana 2624 (*P. cerasifera x P. mun-soniana*)
- Mariana GF 8-1 (P. cerasifera x P. munsoniana)
- Mirobolan B (*P. cerasifera*)
- Mirobolan 29 C (P. cerasifera)

Cultivo in vitro

De yemas procedentes de estos brotes, y mediante técnicas de propagación in vitro, se obtuvieron plantas a partir de las cuales se han tomado las muestras de hojas para la identificación molecular de estos patrones (figura 1).



Figura 1. Propagación in vitro de los patrones seleccionados. Figure 1. In vitro propagation of the selected rootstocks.

Yemas de estas plantas en estado de reposo vegetativo se sembraron en tubo con medio MS (Murashige y Skoog, 1962) suplementado con 0,7 mg/l de 6-benzilamino purina (BAP). Dos semanas después fueron transferidas a medio MS suplementado con 0,1 mg/l BAP y 0,04 mg/l ácido indolbutírico (IBA) para su proliferación. El pH de los medios se ajustó a 5,7, y los cultivos fueron mantenidos y desarrollados en una cámara de cultivo a una temperatura constante de 25 °C con un fotoperiodo de 16 h y provisto de lámparas fluorescentes de luz blanca de 2500-3000 lux.

Caracterización molecular mediante microsatélites

Para la identificación molecular de los patrones recolectados se procedió a la extracción de ADN a partir de hojas del material previamente multiplicado in vitro.

La extracción de ADN se realizó siguiendo la metodología descrita por Hormaza (1999) en tubos Eppendorf de 1,5 ml. El ADN purificado se cuantificó en un espectrofotómetro y se diluyó hasta 10 ng/ul para realizar las reacciones de PCR.

Las reacciones de PCR se realizaron utilizando cebadores de microsatélites va desarrollados en melocotonero y que han producido resultados positivos tanto en albaricoquero (Hormaza, 2001; en prensa) como en cerezo (Wünsch y Hormaza, enviado) y en una serie de diferentes patrones del género Prunus (Serrano et al., en prep.). De dichos cebadores se utilizaron 6 en este análisis (cuadro 1). Las reacciones de amplificación consistieron en 1 ciclo de 2 min. a 94 °C seguidos de 35 ciclos de 45 sec. a 92 °C, 1 min. a 55 °C y 2 min. a 72 °C. Tras el último ciclo se realizó una incubación de 5 min. a 72 °C. Las reacciones se llevaron a cabo en volúmenes de 20 ul que incluyen 20 mM Tris HCl, pH 8,4, 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂, 100 µM de cada dNTP, 0.2 µM de cada cebador, 0.45 unidades de Polimerasa Taq y 40 ng de ADN genómico cubiertos con una gota de aceite mineral. Los fragmentos amplificados se resolvieron mediante electroforesis en geles con 3% de agarosa tipo Metaphor en tampón

Cuadro 1. Lista de microsatélites utilizados en este estudio. La columna de longitud original representa el rango de tamaño de los fragmentos obtenido inicialmente en melocotonero y la columna de tamaño amplificado representa el rango de tamaño de los fragmentos obtenidos en este estudio

Table 1. SSRs used in this study. The column of longitud original represents the size range of the fragments initially obtained in peach and the column of tamaño amplificado represents the size range obtained in this study

Locus	Origen	Longitud original	Tamaño amplificado (bp)		
pchgms2	Sosinski et al., 2000	163			
UDP96-005	Cipriani et al., 1999	155	80-140		
UDP96-018	Cipriani et al., 1999	257	210-260		
UDP96-019	Cipriani et al., 1999	216	160-210		
UDP97-403	Cipriani et al., 1999	150	90-150		
UDP98-407	Cipriani et al., 1999	212	160-220		

P. ERREA, J.I. HORMAZA 139

TBE a 5V/cm, se tiñeron con bromuro de etidio, y se observaron mediante luz UV con un analizador de imagen.

Resultados y discusión

Se recogieron un total de 5 muestras procedentes de la plantación analizada. A partir de las muestras prospectadas se desarrollaron plantas in vitro y mediante observación fenotípica se pudo observar que una de ellas correspondía a un albaricoquero y las restantes 4 pertenecían al grupo de los ciruelos. No obstante, en esta primera fase del desarrollo de las plantas no se pudo obtener más información sobre su adscripción a uno u otro tipo de ciruelos. Por tanto, se planteó la utilización de marcadores moleculares, en concreto de microsatélites, que han demostrado ser una herramienta válida para realizar una identificación y caracterización precoz del material vegetal.

En una primera fase, se seleccionaron 6 pares de cebadores de microsatélites que desarrollaron 9 fragmentos polimórficos entre los ciruelos de crecimiento lento (Puebla de Soto y Montizo) y los de crecimiento rápido (Mariana 2624, Mariana GF 8-1, Mirobolan B y Mirobolan 29C). Posteriormente se procedió a la amplificación de las

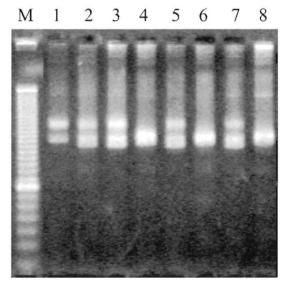


Figura 2. Ejemplo de amplificación con UDP96-019 de diferentes genotipos. 1: Mirobolan B (*P. cerasifera*), 2: Mariana GF 8-1 (*P. cerasifera x P. munsoniana*), 3: Mirobolan 29C (*P. cerasifera*), 4: Puebla de Soto (*P. insititia*), 5: Mariana 2624 (*P. cerasifera x P. munsoniana*), 6: muestra grupo ciruelos de crecimiento lento, 7: muestra grupo ciruelos crecimiento rápido, 8: Montizo (*P. insititia*). M: escala de fragmentos de tamaño conocido.

Figure 2. Example of DNA amplification with primer pair UDP96-019 of several genotypes. 1: Mirobolan B (P. cerasifera), 2: Mariana GF 8-1 (P. cerasifera x P. munsoniana), 3: Mirobolan 29C (P. cerasifera), 4: Puebla de Soto (P. insititia), 5: Mariana 2624 (P. cerasifera x P. munsoniana), 6: sample of slow growing plum group, 7: sample of fast growing plum group, 8: Montizo (P. insititia). M: DNA size markers.

cuatro muestras recolectadas con los cebadores seleccionados. El cuadro | muestra los microsatélites utilizados así como el tamaño de los fragmentos de amplificación obtenidos que, en general, se encuentran dentro del rango inicialmente obtenido en melocotonero. En la figura 2 se observa un ejemplo de amplificación con uno de los 6 pares de cebadores utilizados con el grupo escogido de posibles candidatos y un ejemplo de los dos grupos de las muestras prospectadas. Los datos obtenidos se encuentran resumidos en el cuadro 2. Los resultados obtenidos indican que 2 de las 4 muestras prospectadas presentan un patrón de amplificación de los fragmentos polimórficos similar al de los ciruelos de crecimiento lento y los otros 2 presentan un patrón similar a los ciruelos de crecimiento rápido.

La utilidad de los microsatélites en este tipo de estudios se ve reforzada por la posibilidad de utilizar secuencias desarrolladas en una especie para realizar estudios moleculares en otras especies cercanas. De hecho, en este trabajo las secuencias originales fueron desarrolladas en melocotonero pero han servido para la identificación de material vegetal perteneciente a distintas especies de ciruelos, corroborando otros estudios realizados en este mismo sentido con distintas especies del género *Prunus* (Hormaza, 2001, en prensa; Wünsch y Hormaza, enviado; Serrano *et al.*, en prep.)

El estudio se ha realizado en una plantación establecida hace más de 20 años. En aquel momento, los patrones que se usaban con preferencia para el albaricoquero eran principalmente de dos tipos. Por un lado, los francos de albaricoquero, cuyas semillas procedían de las variedades 'Real Fino' y 'Búlida' en Murcia y 'Canino' en otras regiones. Por otro lado, los ciruelos, que incluyen

Cuadro 2. Amplificación de los diferentes fragmentos polimórficos considerados en este estudio en los genotipos utilizados como control y en los genotipos de composición genética desconocida. + indica presencia del respectivo fragmento de amplificación y – indica ausencia de dicho fragmento

Table 2. Amplification of the different polymorphic fragments considered in this study in the genotypes used as control and of unknown genetic composition. + indicates the presence of the amplification fragment and – indicates the absence of that fragment

	Marcadores polimórficos producidos con cada par de cebadores								
Genotipos	pchgms2		UDP96-005	UDP96-018	UDP96-019	UDP97-403 UDP98-407			
	140	150	80	90	220	160	210	110	180
Puebla de Soto	-	+	-	+	-	-	-		+
Montizo	_	+	=	+	=		=	-	+
Mariana 2624	+	-	+	~	+	+	+	+	-
Mariana GF 8-1	+	-	+	-	+	+	+	+	-
MirobolanB	+	-	+	-	+	-	+	+	-
Mirobolan 29C	+	-	+	-	+	+	+	+	Tea
Muestra 1	-	+		+		-	-	-	+
Muestra 2	-	+	-	+		-	-	-	+
Muestra 3	+	-	+	=	+	+	+	+	Œ
Muestra 4	+	1000	+	_	+	+	+	+	(#

los Mirobolanes de semilla, que presentaban muchos problemas de rotura con las variedades exigentes, y los Pollizos, que eran los patrones más ampliamente utilizados en la región de Murcia (Bernhard, 1990). El gran problema de los patrones francos es que presentan unas condiciones de adaptación a los suelos muy concretas, que no pueden ser generalizadas a todas las áreas de cultivo, fundamentalmente por los problemas de asfixia y sensibilidad a patógenos que presenta el sistema radicular. Y en el caso de los ciruelos, especialmente los de crecimiento rápido, presentan problemas de incompatibilidad en la unión con el grupo de variedades exigentes (Bernhard, 1990, Errea y Felipe, 1998), entre las que se encuentran variedades que son comercialmente interesantes. El hecho de haber seleccionado alguno de los patrones pertenecientes a este grupo, y que han desarrollado durante años árboles de la variedad 'Moniquí' sin que haya aparecido ningún síntoma de incompatibilidad, hace pensar en la posibilidad de haberse seleccionado naturalmente alguno de estos ciruelos procedentes de semilla, con las características idóneas para salvar estos problemas de compatibilidad tan comunes en los patrones pertenecientes a estos grupos.

La posibilidad de estudiar y seleccionar patrones en zonas con unas características edáficas determinadas para el cultivo de esta especie y adaptadas a unas condiciones de cultivo propias de una determinada región, abre las puertas a la posibilidad de recuperar un material vegetal local sobre el que ya se ha realizado una selección empírica a lo largo de varios años. La diversidad del material vegetal disponible permite albergar fundadas esperanzas de que un trabajo serio de recolección y selección de material vegetal autóctono puede proporcionar patrones más adaptados a unas condiciones determinadas

y capaces de satisfacer las exigencias actuales de homogeneidad, adaptación, comportamiento agronómico y resistencia a determinadas condiciones adversas. Esto va a permitir dar respuesta a una demanda existente en el sector viverístico, en continua renovación de material vegetal y donde el interés por el albaricoquero es cada vez más intenso. Actualmente los trabajos continúan con el establecimiento de un ensavo de comportamiento de los diferentes patrones prospectados junto con patrones de referencia utilizando 2 variedades, lo que permitirá comprobar el comportamiento comparado de los genotipos seleccionados. La aproximación utilizada en este trabajo combinando técnicas de cultivo in vitro con marcadores moleculares puede ser extrapolable a otras especies frutales y a distintos problemas de interés agronómico con el objetivo de realizar una selección precoz del material vegetal.

Bibliografía

- AUDUBERT A., EDIN M., GARCIN A., 1994. Portinnesti dell'albicocco: la gamma si allarga. Rivista di Frutticoltura, 9, 63-66.
- Bernhard R., 1990. La selección de los patrones para el albaricoquero y el ciruelo. En: Estado actual de los patrones frutales. XXII Jornadas AIDA, pp. 41-72
- CIPRIANI G., LOT G., HUANG W.G., MARRAZZO M.T., PETERLUNGER E., TESTOLIN R., 1999. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [Prunus persica (L) Batsch]: isolation, characterisation and cross-species amplification in Prunus. Theoretical and Applied Genetics, 99, 65-72.
- CROSSA-RAYNAUD P., AUDERGON J.M., 1987. Apricot rootstocks. En: Rootstocks for fruit crops. Rom R.C. y Carlson R.F. (Eds). John Wiley & Sons: New York. EE: UU. pp. 295-320.
- EGEA J., 1998. El albaricoquero en España: Panorámica varietal. Fruticultura Profesional, 96, 49-55.

- ERREA P., FELIPE A.J., 1993. Compatibilidad de injerto en albaricoquero (*Prunus armeniaca*). Investigación Agraria. Producción y Protección Vegetal, 8(1), 67-77.
- ERREA P., FELIPE A.J., 1998. Situación actual de los patrones de albaricoquero. Fruticultura Profesional, 96, 12-18.
- FELIPE A.J., 1989. Patrones para frutales de pepita y hueso. Ediciones Técnicas Europeas S.A.: Barcelona, España.
- HORMAZA J.I., 1996. Marcadores de ADN aplicados a la mejora de frutales. Información Técnica y Economía Agraria 92(1): 5-15.
- HORMAZA J.I., en prensa. Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus* armeniaca L.) genotypes using Simple Sequence Repeats. Theoretical and Applied Genetics.
- HORMAZA J.1., PINNEY K., POLITO V.S. 1998. Genetic diversity of pistachio (*Pistacia vera* L.) germplasm based on Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. Economic Botany 52, 78-87.
- HORMAZA J.I., 1999. Early selection in cherry combining RAPDs with embryo culture. Scientia Horticulturae, 79, 121-126.
- HORMAZA J.I., 2001. Identification of apricot (Prunus armeniaca L.) genotypes using microsatellite and RAPD markers. Acta Horticulturae 546: 209-215.

- LAYNE R.E.C., BAILEY C.H., HOUGH F., 1996. Apricots. En: Fruit Breeding, Vol. 1: Tree and Tropical Fruits. Janick, J. y Moore N. (Eds). John Wiley & Sons: New York, EE.UU. pp 79-J09.
- MURASHIGE T., SKOOG F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15, 473-497.
- PIRAZZINI P., 1997. Osservazioni sul comportamento di portinnesti dell'albicocco nell'imolese. Rivista di Frutticoltura, 7/8, 47-49.
- SERRANO B., GÓMEZ-APARISI J., HORMAZA J.I. (enviado) Fingerprinting *Prunus* rootstocks using SSRs.
- SOSINSKI B., GANNAVARAPU M., HAGER L.D., BECK L.E., KING G.J., RYDER C.D., RAJAPAKSE S., BAIRD W.V., BALLARD R.E., ABBOTT A.G., 2000. Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]. Theoretical and Applied Genetics, 101, 421-428.
- WÜNSCH A., HORMAZA J.I. (en prensa) Cultivar identification and genetic fingerprinting of temperate fruit tree species using DNA markers. Euphytica.
- WÜNSCH A., HORMAZA J.I. (enviado) Molecular characterization of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using peach (*Prunus persica* L. Batsch.) SSR sequences. Heredity.
- (Aceptado para publicación el 4 de octubre de 2001)