

Identificación de variedades de patata mediante marcadores moleculares

La utilización de los marcadores de ADN permite la identificación de las variedades de una forma rápida y fiable

**Felisa Ortega Villalmanzo,
Ana Carrasco Pérez,
Roberto Ruiz de Arcaute,
Simón Isla.**

Agrupación de Productores de Patata de Castilla y León (Appacale).

El factor varietal se ha convertido en clave para todos los eslabones de la cadena de la producción agraria, desde el obtentor preocupado por proteger sus derechos hasta el consumidor que paga por una calidad determinada. Mediante la técnica de los microsatélites, asociados a la PCR, la Asociación de Productores de Patata de Castilla y León (Appacale) puede identificar y establecer un perfil genético de numerosas variedades de patata cultivadas.



La variedad es en la actualidad un factor determinante para cualquier cultivo tanto a nivel técnico (adaptación a la zona de producción, especialización para diferentes usos, etc.), como económico (exclusividad, nichos comerciales, etc.). Por ello, la identificación varietal de los cultivos es importante en cualquier eslabón de la cadena de producción agraria.

En su primer paso como variedad, las obtenciones vegetales para poder ser registradas como nuevas variedades deben

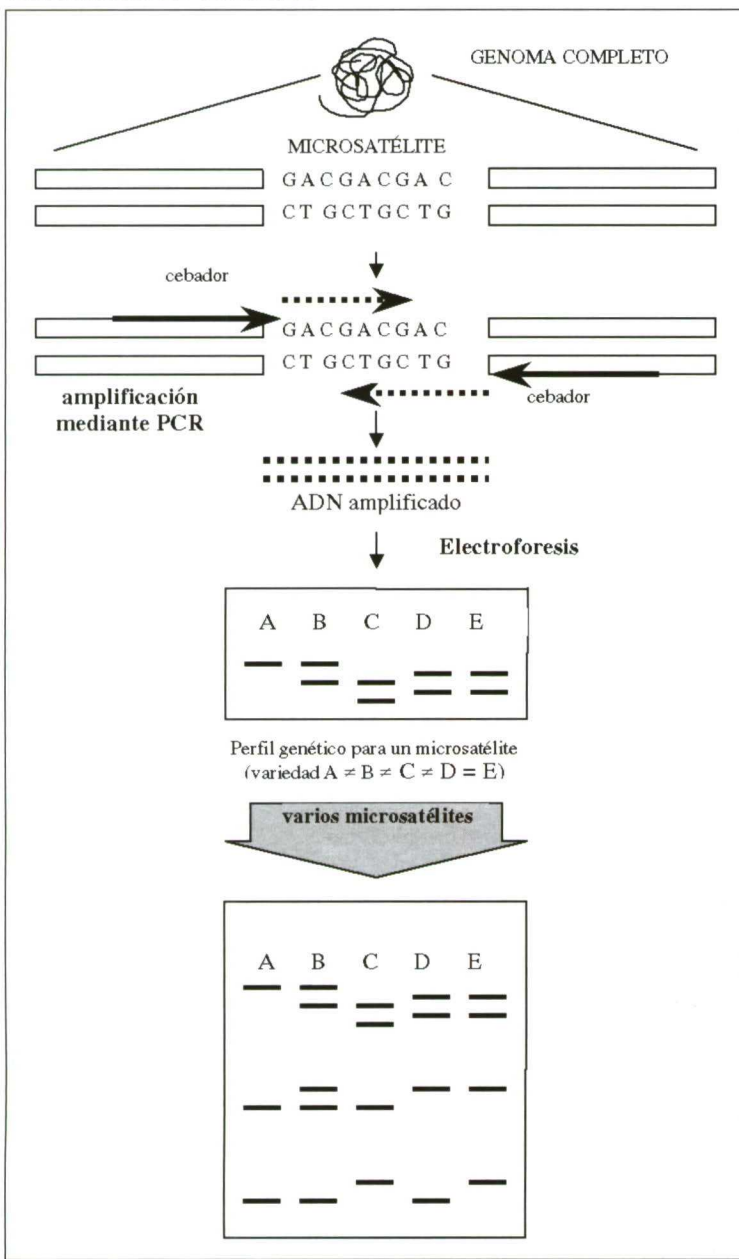
satisfacer los requisitos de ser distintas, homogéneas y estables. En el proceso de evaluación para Registro, los criterios de homogeneidad y estabilidad se evalúan sin problemas, sin embargo los criterios de distinción son más difíciles de establecer. Posteriormente, una vez registrada, los obtentores deben protegerse de la utilización ilícita de sus variedades. Desde los comienzos del siglo XX la necesidad de protección de las variedades hizo que los fitomejoradores buscaran medios legales para proteger

sus derechos. Así en 1960 se creó la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV) que desde entonces se ha encargado de armonizar las normas jurídicas para la protección de variedades entre los Estados miembros.

Por último, una vez en el mercado, se hace necesario reforzar las garantías aportadas al usuario, desde el agricultor-productor de semilla hasta el consumidor del supermercado, en materia de pureza e identificación varietal y poder confirmar que se ha sumi-

Figura 1.

ESQUEMA BÁSICO DE LA UTILIZACIÓN DE LOS MICROSATÉLITES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE VARIEDADES.



pia de fragmentos de ADN. La naturaleza y longitud de los fragmentos amplificados depende de los cebadores o iniciadores de la reacción que se utilicen.

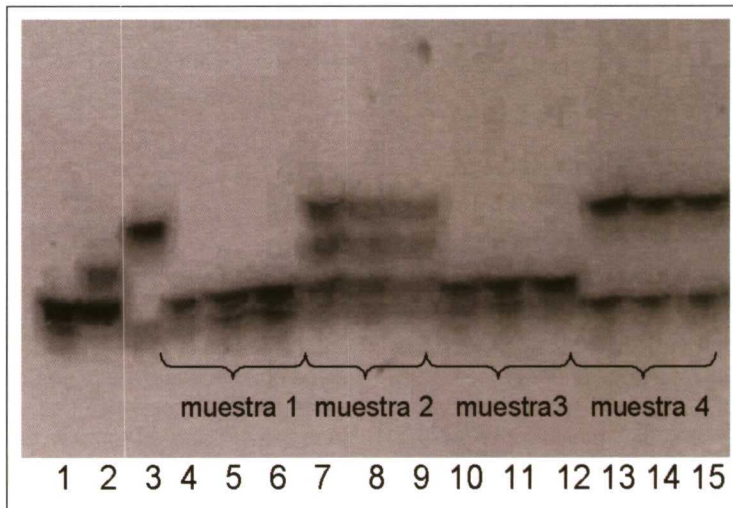
En Appacale se utilizan los marcadores denominados "microsatélites" o SSRs (Repetición de Secuencias Simples). Los microsatélites son zonas del genoma ricas en repeticiones en tándem de dos a ocho nucleótidos, que son las "letras" con las que se escribe el código genético. Las diferencias entre las variedades se basan en el número de ve-

ces que se repiten estas secuencias básicas. Por ejemplo, la variedad A tiene el microsatélite (GAC)³, en el que se repite GAC tres veces y se diferencia de la variedad B que tiene 7 repeticiones de GAC, (GAC)⁷. Su aplicación como marcadores se basa en la amplificación de estas áreas repetidas mediante la PCR con cebadores complementarios de las zonas flanqueantes del microsatélite (figura 1).

Para realizar el análisis con marcadores moleculares de este tipo, en primer lugar se ex-

Figura 2.

IDENTIFICACIÓN DE LOTES DE PATATA MEDIANTE MICROSATÉLITES.



trae el ADN de la muestra o variedad a estudiar, bien de tejido de hoja o de tubérculo, y a continuación se "copia" o amplifica el microsatélite que deseamos mediante una PCR, utilizando los cebadores específicos para ese microsatélite. Por último, se visualizan los fragmentos amplificados en un gel de poliacrilamida teñido con nitrato de plata. Normalmente aparecen una o dos bandas por microsatélite, cada una se corresponde con un fragmento de ADN amplificado. Cada microsatélite da un patrón de bandas único, de forma que la suma de la información producida por varios microsatélites produce un patrón de bandas conjunto que es específico de cada variedad. Este patrón de bandas es como una huella dactilar y puede ser usado para distinguir a esa variedad de las demás. Por ejemplo, en la FNPT (*Federation Nationale des Producteurs de Plant de Pomme de Terre*) con cinco microsatélites pueden distinguir entre 206 variedades diferentes (Moisan-Thierry, 2001). Si tenemos el perfil molecular de una muestra desconocida y queremos saber si corresponde a

una variedad determinada, tendremos que compararlos. Si los dos perfiles difieren entre sí aunque solo sea en una banda, podemos afirmar que no son la misma variedad (figura 2).

Así pues, la utilización de los marcadores de ADN permite la identificación de las variedades de una forma rápida y fiable, lo que se puede aplicar a diferentes situaciones, como verificar el material producido in vitro para la producción de semilla prebase, analizar la pureza varietal de lotes de patata de siembra o comprobar la veracidad del etiquetado en patatas de consumo, identificar rápidamente un lote de plantas o proteger los derechos de los obtentores evitando la multiplicación fraudulenta de variedades protegidas. ■

Bibliografía

- Cooke, R.J. 1999. New approaches to potato variety identification. *Potato Research*, 42:529-540.
- Le Hingrat, Y., Garry, G. 1998. Identifier les variétés de pommes de terre. *La pomme de terre française*, 509:22-23.
- Moisan-Thierry, M. 2001. Par leur profil génétique. *Identification des variétés. La pomme de terre française*, 527:20-22.
- Stegemann, h., Loeschke, V. 1976. *Index of European Potato Varieties*, *Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt*, 168, Berlin 1976, 1-217.