

Appacale investiga nuevas variedades de patata en Castilla y León (y II)

Busca patatas que se ajusten a la calidad demandada y con buen comportamiento en campo

Siguiendo con los trabajos de mejora genética que Appacale realiza desde 1993, esta segunda parte se centra en las actuaciones de I+D+i (Investigación, Desarrollo e innovación) realizadas en 2001, así como en las técnicas moleculares aplicadas a la mejora genética y la optimización de este programa mediante el trabajo a nivel diploide que permite ampliar la base genética.

Simón Isla Fernández. Ingeniero Agrónomo
Director-Gerente MIT.

Roberto Ruiz de Arcaute Rivero. Químico
Agrícola. Coordinador de I+D.

Ana Carrasco Pérez Doctor CC. Biológicas.
Área Biotecnología.

Felisa Ortega. Lic. Biología. Becaria.



Cuajado de frutos en invernadero.

Las actuaciones de I+D+i que se han realizado en el año 2001 continúan siguiendo el esquema ya planeado del programa de Mejora Genética de la patata. Estas actuaciones se pueden resumir en los puntos siguientes:

- Continuación y optimización del proceso de selección del programa de Mejora diseñado con los tres subprogramas definidos en función de sus tres objetivos: a) obtención de variedades para consumo en fresco, b) variedades con aptitud para industria y c) variedades con resistencia a PVY combinada con aptitudes de calidad.

- Continuación de la selección en las primeras generaciones mediante la siembra en macetas y selección positiva de clones para todo el material inicial del programa de mejora; realización de una evaluación de calidad preliminar en generaciones tempranas, para mejorar la eficiencia de la selección, basándose en experiencias anteriores.

- Continuación de los ensayos de campo en red exterior, con campos en cuatro comu-

nidades autónomas: Andalucía, Galicia, Castilla y León, y Rioja.

- Ensayos de campo de clones presentados al Registro de variedades, en colaboración con cooperativas productoras de patata de consumo y de siembra de Castilla y León.

- Continuación de los trabajos del área de Biología Molecular en apoyo al Programa de Mejora: se han realizado los análisis de los clones del subprograma de mejora para resistencia a PVY a fin de determinar la presencia del gen de inmunidad Ryadg con el marcador RYSC3 desde las primeras generaciones.

- Se ha realizado una labor muy importante en la identificación de variedades y clones propios mediante la aplicación de marcadores moleculares de ADN de tipo SSR (microsatélites).

- Ha continuado el programa de mejora a nivel diploide: Obtención de nuevos dihaploides; evaluación en campo de los ya obtenidos y de otros clones diploides disponibles.

- Realización de los primeros ensayos en la aplicación de marcadores moleculares SSR para la selección del genoma completo en el programa de mejora diploide.

- Han continuado los trabajos para obtener

clones tetraploides mediante fusión somática de protoplastos. Asimismo, se ha comenzado



La selección de los clones con mejores características requiere el manejo de grandes poblaciones.

a utilizar los híbridos somáticos obtenidos en APPACALE como nuevos parentales del programa de mejora tetraploide (retrocruces de híbridos somáticos con variedades comerciales o clones tuberosum).

- Se ha mantenido el Banco de Germoplasma de la empresa, y se ha incrementado con variedades comerciales nuevas y con algunos de los clones de líneas avanzadas de la empresa que tienen caracteres especiales (resistencia a PVY o alta calidad de transformación).

- Actividades realizadas, complementarias a este programa:

- Apoyo a becas concedidas por la A.D.E. y por programa MIT en formación en actividad científica.
- Apoyo como EPO a proyectos de investigación en colaboración con IRTA (Cabrils) y CSIC-CID (Barcelona) aprobados por los programas nacionales de I+D, mediante la realización de ensayos de campo para evaluación de ciclo.
- Ensayo del Plan de Experimentación Agraria desarrollado para evaluar la aplicación de técnicas de producción de planta sana mediante cultivo in vitro.
- Difusión de temas de la Mejora en distintos ámbitos.

Técnicas moleculares aplicadas a la mejora genética

Selección apoyada por marcadores moleculares

Una de las etapas de un programa de mejora que más tiempo y trabajo consumen es la selección de los clones con mejores caracteres. Este esfuerzo se ve incrementado en el caso de la patata ya que requiere el manejo de grandes poblaciones, lo que repercute también a la hora de hacer una selección efectiva. Por ello, en APPACALE SA se ha recurrido a la Biología Molecular en busca de una herramienta que permita realizar una selección precoz y precisa. Esta herramienta son los "mar-

TABLA. RESUMEN DE LOS RESULTADOS DEL PROGRAMA DE MEJORA (1995-2001)

	1.995	1.996	1.997	1.998	1.999	2.000	2.001
Banco de genitores	112	122	122	207	217	218	218
Flores polinizadas	11.423	14.545	15.481	16.733	19.176	16.627	14.543
Bayas obtenidas	1.609	1.179	1.483	2.128	3.088	2.445	2.103
Semillas obtenidas	48.437	19.791	32.461	43.781	53.542	40.425	52.876
Semillas sembradas	42.133	47.914	44.012	46.538	47.503	37.469	35.000
Plantas transplant.	29.649	24.226	27.039	32.678	33.759	28.944	25.848
Familias	98	154	230	179	200	143	110
Clones año cero	-	-	-	-	-	-	20.804
Clones de 1º año	1.438	1.212	1.034	979	684	733	1.138
Clones de 2º año	51	82	321	217	308	257	310
Clones de 3º año	6	28	27	51	35	92	61
Clones de 4º año	-	6	10	6	17	44	21
Clones de 5º año	-	-	-	4	4	13	5
Clones de 6º año	-	-	-	-	2	1	6
Clones de 7º año	-	-	-	-	-	2	1
Clones de 8º año	-	-	-	-	-	-	2



Las primeras generaciones se siembran en macetas.

cadores moleculares". Mediante esta técnica se marcan las regiones de la cadena de ADN que están ligadas a caracteres de interés. De esta forma, analizamos la base de la información que caracteriza a un individuo: el ADN. A este tipo de selección se le llama Selección Asistida por Marcadores Moleculares.

Se está utilizando todo el potencial disponible de equipamiento y técnicas para apoyar

a la selección convencional, como se viene realizando desde sus inicios en 1.999. Se ha aplicado este apoyo en primer lugar al subprograma de resistencia a PVY para identificar aquellos clones que contengan genes de resistencia de forma segura y extenderlo luego a otros genes que tengan marcadores descritos. Así, se han analizado 185 clones que podrían presentar el gen Ryadg de los cuales manifestaron su presencia 84. Estos últimos continuaron en el proceso de selección.

Identificación de variedades mediante marcadores moleculares SSR

Gracias a la nueva técnica incorporada durante el año 2001 de la aplicación de marcadores moleculares SSR (microsatélites) se ha podido identificar o diferenciar en un sólo análisis 17 variedades comerciales de patata.

Optimización de la mejora de la patata: mejora a nivel diploide

Dentro de las limitaciones de un programa de mejora genética en patata, podemos destacar la escasa variabilidad existente entre las variedades cultivadas debido a su estre-

AGRONEGOCIOS
SEMINARIO INTERNACIONAL DE INNOVACIÓN AGROPECUARIA, GANADERA Y FORESTAL

lo más rápido

On line

Suscriptor: ya puede acceder a AgroNegocios por Internet, evitando el envío por correo.

Si desea este servicio, contacte con:

EUMEDIA. Telf.: 91 426 44 30
Fax: 91 575 32 97
E-mail: suscripciones@eumedia.es

rápido

económico

eficaz

cha base genética. Por lo tanto, se hace necesario la introducción de variabilidad en el germoplasma de patata con el fin de ampliar su base genética y conseguir así, nuevas variedades con caracteres de interés y mejores que las actuales. Como es sabido, la poliploidía de la patata cultivada ($2n=4x=48$ tetraploide) permite una mayor productividad de la planta, pero a la vez causa importantes efectos del ambiente en la expresión de caracteres de importancia como el rendimiento y la calidad, así como una segregación en la progenie muy compleja.

El trabajo a nivel diploide puede solucionar en parte estas dificultades ya que, a ese nivel, se puede realizar una buena selección de caracteres tanto morfológicos como de rendimiento y de calidad puesto que la segregación de estos caracteres va a ser mucho más sencilla en las progenies diploides. Por otro lado, la única vía para introducir variabilidad es la utilización de especies silvestres afines a patata y el 70% de estas especies silvestres son diploides ($2n=2x=24$).

Dentro de la línea de obtención de dihaploides se han realizado 2.030 cruzamientos obteniéndose un total de 2.000 semillas, de las cuales 190 resultaron ser potencialmente dihaploides. Además, se han realizado el primer ensayo de campo de dihaploides obtenidos en Appacale disponiendo en estos momentos de un total de 78 clones.

Respecto a la creación de poblaciones diploides mejoradas, se ha seguido con la realización de cruzamientos, utilizando especies silvestres de interés por sus resistencias y/o contenido en materia seca. Así, se han obtenido un total de 6.976 semillas procedentes de cruzamientos de diploides de patata con 11 especies silvestres diferentes. Siguiendo en esta línea, se dispone de 77 clones obte-



Cultivo in vitro.

nidos del primer retrocruzamiento diploide entre un clon diploide tuberosum resistente a PVY, con polen de la familia obtenida del mismo clon con la especie silvestre de alto contenido en materia seca *S. boliviense*. Por otra parte, se ha realizado el primer ensayo de campo de 4 familias cuyos parentales masculinos eran 4 especies silvestres diferentes y los clones obtenidos serán seleccionados en función de su grado de tuberización. Finalmente, se sembraron 149 clones diploides mejorados con diferentes caracteres de interés. Se ha comprobado que 9 de ellos pueden presentar resistencia a PVY.

Por último, en la fase de retorno a nivel tetraploide por gametos no reducidos en cruzamientos $4x \times 2x$ se han obtenido 175 semillas que potencialmente tendrán ya el nivel tetraploide.

Hibridación somática

Actualmente se dispone de aproximadamente 700 plántulas procedentes de 5 fusiones diferentes de las cuales unas 200 se están aclimatando en invernadero. De algunas de ellas ya se ha comprobado su carácter híbrido por marcadores. Se han utilizado especies silvestres como *S. pinnatisectum*, *S. jamesii* y *S. etuberosum*, que presentan diferentes características de interés y que tienen como peculiaridad que no pueden ser cruzadas con tuberosum, por lo que la única manera de obtener híbridos es mediante la técnica de fusión de protoplastos. Además se ha utilizado *S. berthaultii* y *S. andreamum* ambas con resistencia a mildiu. También se ha realizado fusiones de clones diploides mejorados para el retorno al nivel tetraploide. En fase de cultivo de protoplastos hay otras 3 fusiones.

Por último, se ha dado un paso muy importante ya que se han obtenido por primera vez 9 progenies con un híbrido somático obtenido en 2000. Se han conseguido un total de 2.966 semillas, sembrando una pequeña partida de 200 semillas de 4 progenies. Los clones obtenidos serán tetraploides y presentarán material genético de la especie silvestre *S. tarijense*. Estos clones serán cosechados próximamente.

Conclusión

La obtención de nuevas variedades requiere un programa de Mejora Genética que, incluso con apoyo de nuevas técnicas de Biología Molecular, precisa largos años de trabajo para alcanzar el objetivo. Los clones pasan fuertes evaluaciones y cribas cada año, buscando aquellos que superan a variedades conocidas. La especialización de los consumidores provoca una demanda que va a obligar a los agricultores a plantar variedades con características específicas para un destino (consumo en fresco o industrial). En APPACALE S.A. estamos haciendo un esfuerzo para obtener variedades que se ajusten a la demanda de los consumidores en cuanto a calidad y que tengan un buen comportamiento en campo para el agricultor.

En el programa de APPACALE SA, además de las empresas privadas productoras de patata de siembra mencionadas, colaboran los siguientes organismos:

- Junta de Castilla y León.
- Ministerio de Industria y Energía (Programa PROFIT).
- Ministerio de Educación y Ciencia (Programa I.D.E.).
- Consorcio de Promoción Agropecuaria Provincial de Burgos (Excma. Diputación Provincial de Burgos y Caja de Ahorros de Burgos).
- Excma. Diputación Provincial de Palencia. ■



Análisis de calidad para comprobar la aptitud de los clones para frito.