



I Congreso Internacional de Investigación y Desarrollo de papas nativas

Quito, 10 al 16 de Marzo, 2010



MARCADORES FUNCIONALES ASOCIADOS AL ENDULZAMIENTO INDUCIDO POR FRÍO EN PAPAS NATIVAS DE ARGENTINA

Autores: Colman Silvana L.^{1,2}, Divito SB.², Digilio A.³, Monti M.C.⁴, Feingold S.E².

1- Becaria Conicet

2- Laboratorio de Agrobiotecnología. INTA Balcarce

3- Banco de Germoplasma de papa y forrajeras INTA Balcarce

4-Laboratorio de Calidad y Tecnología Poscosecha. Propapa. INTA Balcarce

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria



Producción de papa industria en Argentina

- Amplia disponibilidad de materia prima.
- Producción estable de más de 2 millones de toneladas anuales de papa fresca.
- Condiciones agroecológicas ideales en las regiones productoras (las principales son Buenos Aires y Tucumán).
- Demanda mundial creciente (creció 13% en el último año) y mayor consumo interno (se cuadruplicó en los últimos 5 años)
- Posicionamiento de Argentina como proveedor del Mercosur: 63% de la demanda del Mercosur es abastecida por Argentina.

Para asegurar la continua provisión de papa para el consumo:



Almacenamiento de los tubérculos a baja temperatura (4-8° C)

Disminuye

La actividad de patógenos

La tasa de respiración

La pérdida de agua

El envejecimiento

El brotado

Aumenta

**El contenido de
azúcares reductores
(AR)**

**“ENDULZAMIENTO
INDUCIDO POR FRÍO”**

ALTO CONTENIDO DE AZÚCARES REDUCTORES (AR)

Durante la producción de papas fritas:

Reacción de Maillard

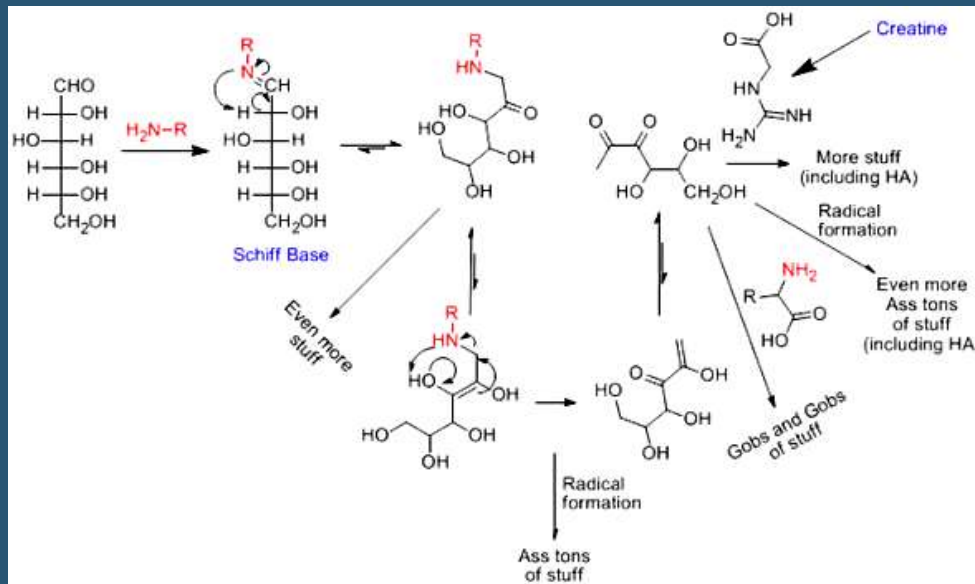
Azúcares reductores

+

Grupos amino libres de aminoácidos

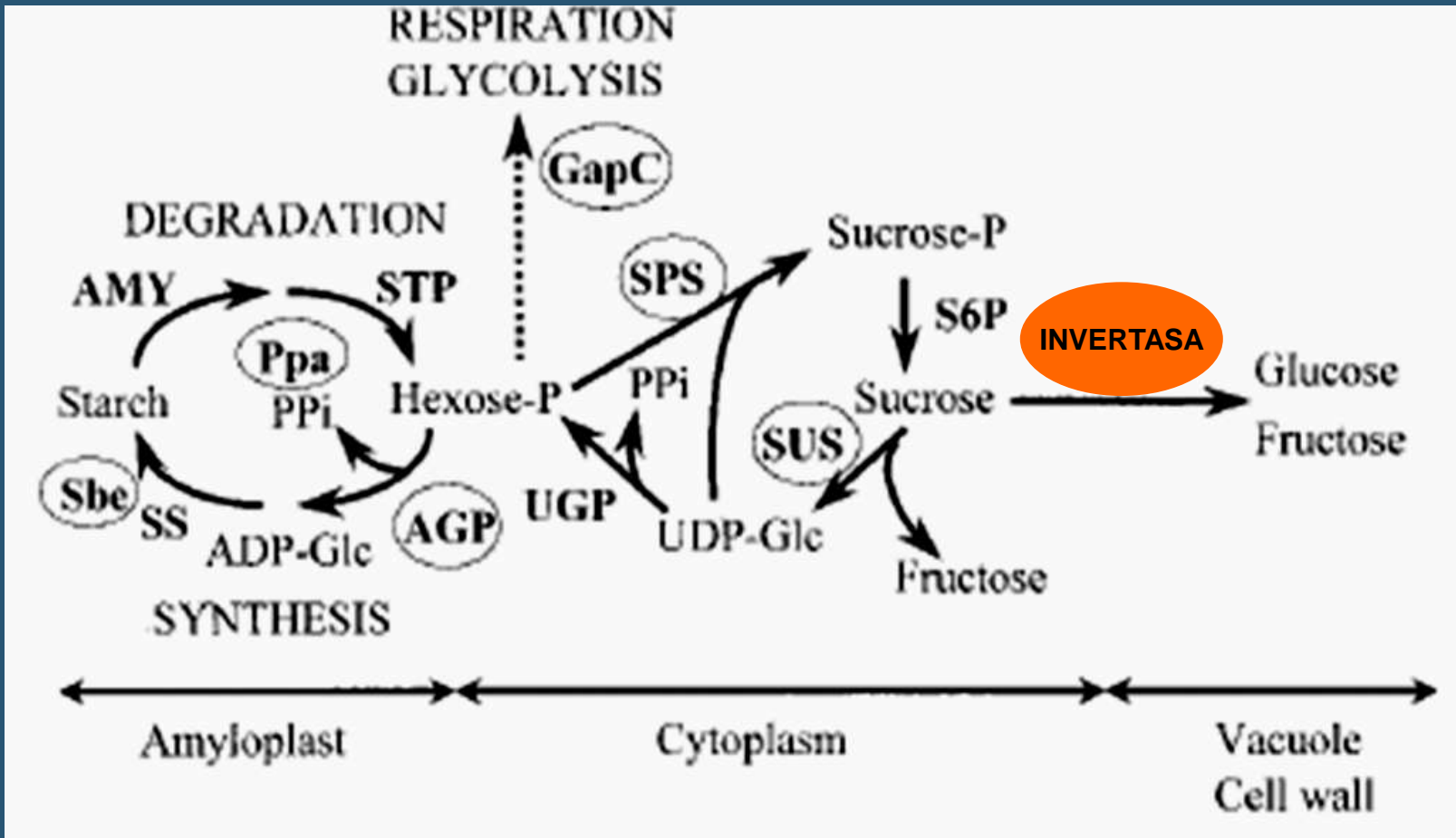


- Pigmentos poliméricos pardo oscuros (melanoidinas)
- Compuestos intermedios perjudiciales para la salud (acrilamida)



Papas fritas de color marrón oscuro, sabor amargo e inferior valor nutritivo

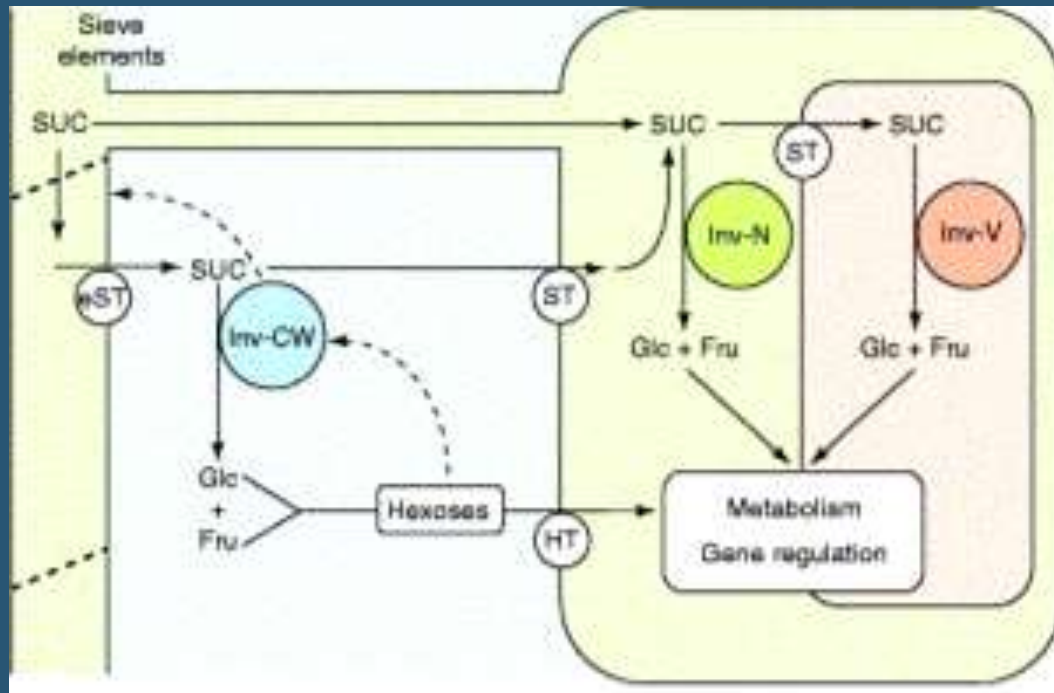
Principales reacciones enzimáticas involucradas en la formación de azúcares reductores y sacarosa



Plantas superiores presentan 3 tipos de invertasas:

- Invertasa ácida vacuolar (Inv-V)
- Invertasa ácida apoplástica (Inv-CW)
- Invertasa neutral (Inv-N)

• Localización subcelular y mecanismos de descarga desde el floema:



Inv-V → Locus: *Pain-1*, sobre el cromosoma III

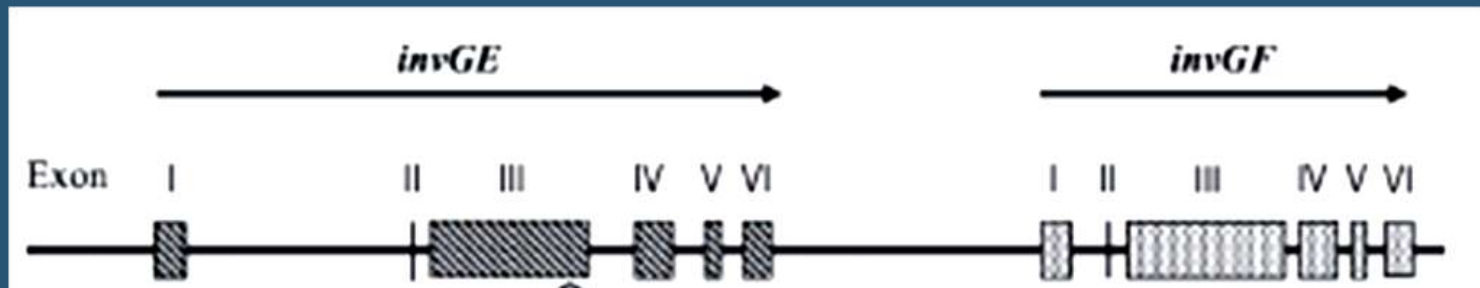
Inv_{ap}-a, sobre el cromosoma X

Inv-CW →

Inv_{ap}-b, sobre el cromosoma IX

Cada uno presenta dos genes de invertasas duplicados en tándem

Inv_{ap}-b

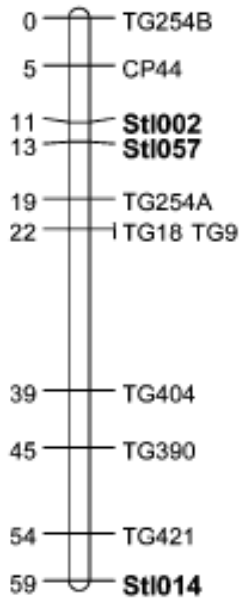


El locus complejo de invertasa *invGE/GF*, ha sido postulado como candidato para ENDULZAMIENTO INDUCIDO POR FRÍO



- Co-localiza con el QTL *Sug9a* para endulzamiento por frío.
- Los genes *invGE/GF* son ortólogos a los genes de tomate *LIN5/LIN7* responsables del QTL *Brix9-2-5* asociado al contenido de azúcares de frutos de tomate.
- Ha sido encontrada una asociación entre el color de las papas fritas y variaciones naturales de *invGE/GF*.

IX

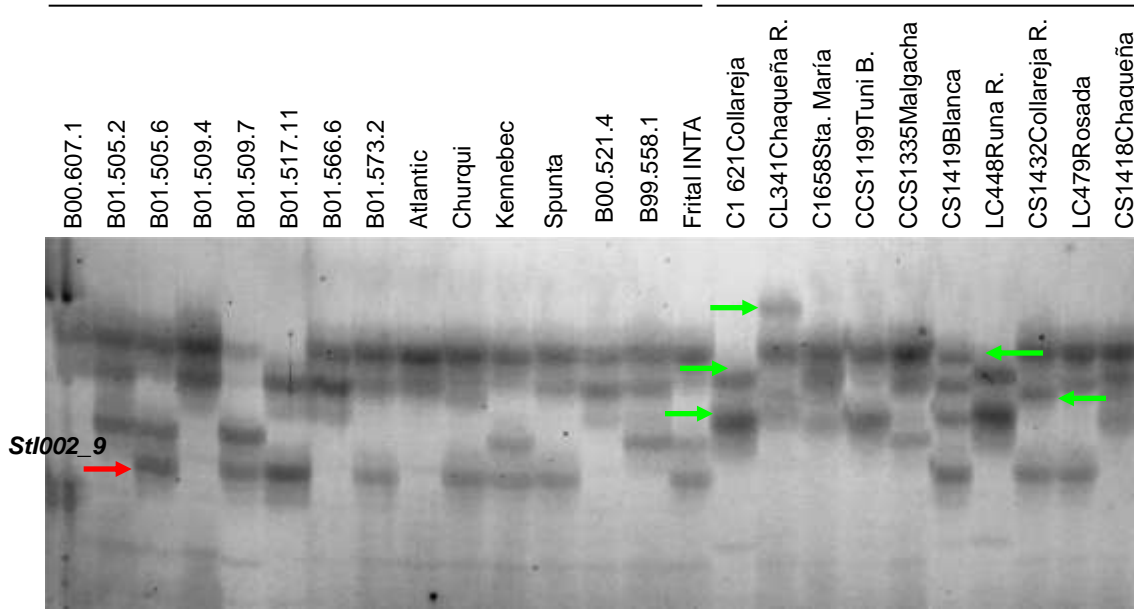
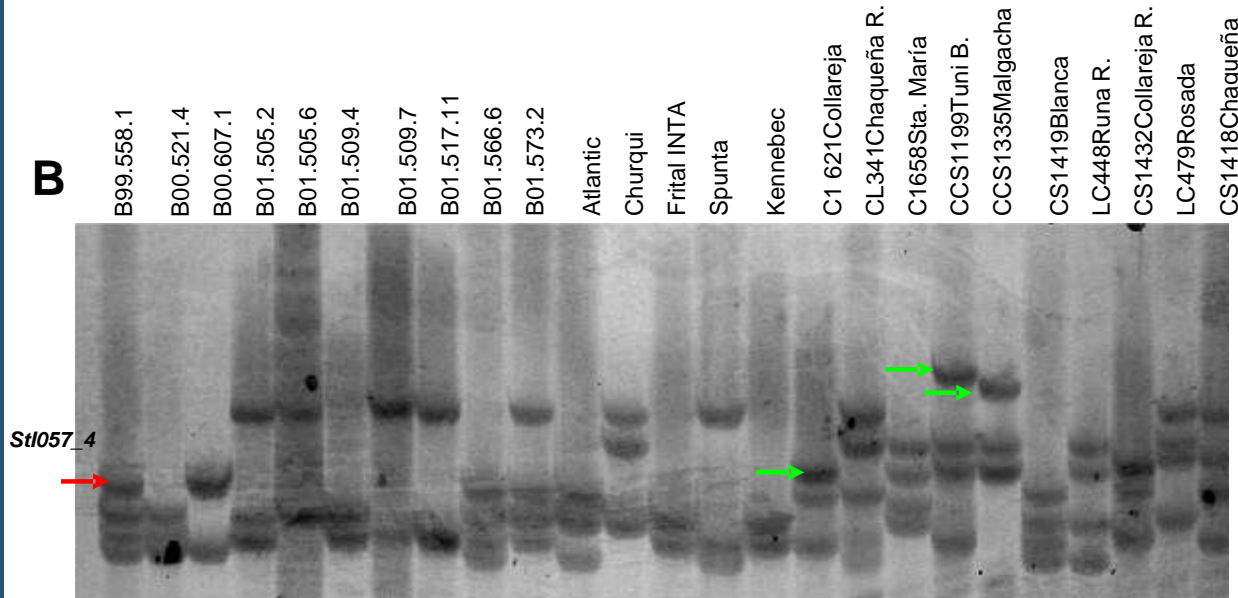


StI002: diseñado dentro del gen *invGF*.

Repetición: (ATT)_n

StI057: diseñado a partir de una secuencia exónica del gen de la enzima de ramificación del almidón *Sbe II*. Se encuentra genéticamente ligado al locus *invGE/GF*.

Repetición: (AAG)_n

A*ssp. tuberosum**ssp. andígena***B***ssp. tuberosum**ssp. andígena*

Genotipo	Cosecha	4 °C
B01.566.6		
Atlantic		
StI002 Frital		
B01.505.2		
B01.509.7		
Kennebec		
StI057 Spunta		

Colman SL (2009) Variación alélica de invertasas y su relación con el endulzamiento inducido por frío en papa (*Solanum tuberosum* L.). UNMdP. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Mar del Plata, Argentina. 63p.

OBJETIVO

Evaluar la variabilidad alélica de las invertasas *invGE/GF* evidenciada por los microsatélites StI002 y StI057 en una colección de 47 genotipos de papa *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* y su contribución al endulzamiento inducido por frío.

Se trabajó con 47 genotipos de los siguientes cultivares (*Solanum tuberosum* ssp. *andigena*):

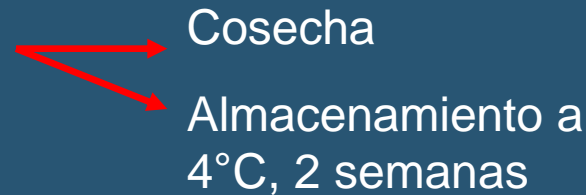


Nombre	Código									
Criolla	LC262	LC259 A								
Tuni Blanca	LC392	CCS1199	LC386							
Collareja	LC482	LC466	LC515	LC441	LC508	LC328	CS1432	LC389	LC344	CL621
Chaqueña redonda	LC341									
Moradita	LC82	CCS1307								
Rosada	LC479	LC198	CCS1321							
Blanca	CCS1350	CS1419	LC451	LC329						
Dulce	LC496									
Santa María	CI658									
Colorada	LC452	CCS1395	LC509							
Overa	CCS1194									
Tuni Morada	LC342	LC388								
Malgacha	CCS1335									
Cuarentona	CS1430									
Rara Cauqueva	CQA3									
Collareja larga	LC449									
Chaqueña	CS1418									
Blanca larga	LC339									
Runa redonda	LC448									
Imilla negra	LC348									
Rosada Bola	LC478									
Oquecha	LC475									
Churqueña	LC491									
Papa Oca	CCS1197									
Roja	LC408									
B	LC259									

(Colección de papas nativas del Banco de Germoplasma de Papa y Forrajeras, EEA INTA Balcarce).

Estudio de la respuesta al almacenamiento a baja temperatura

- Cuantificación de AR (Somogyi 1951)

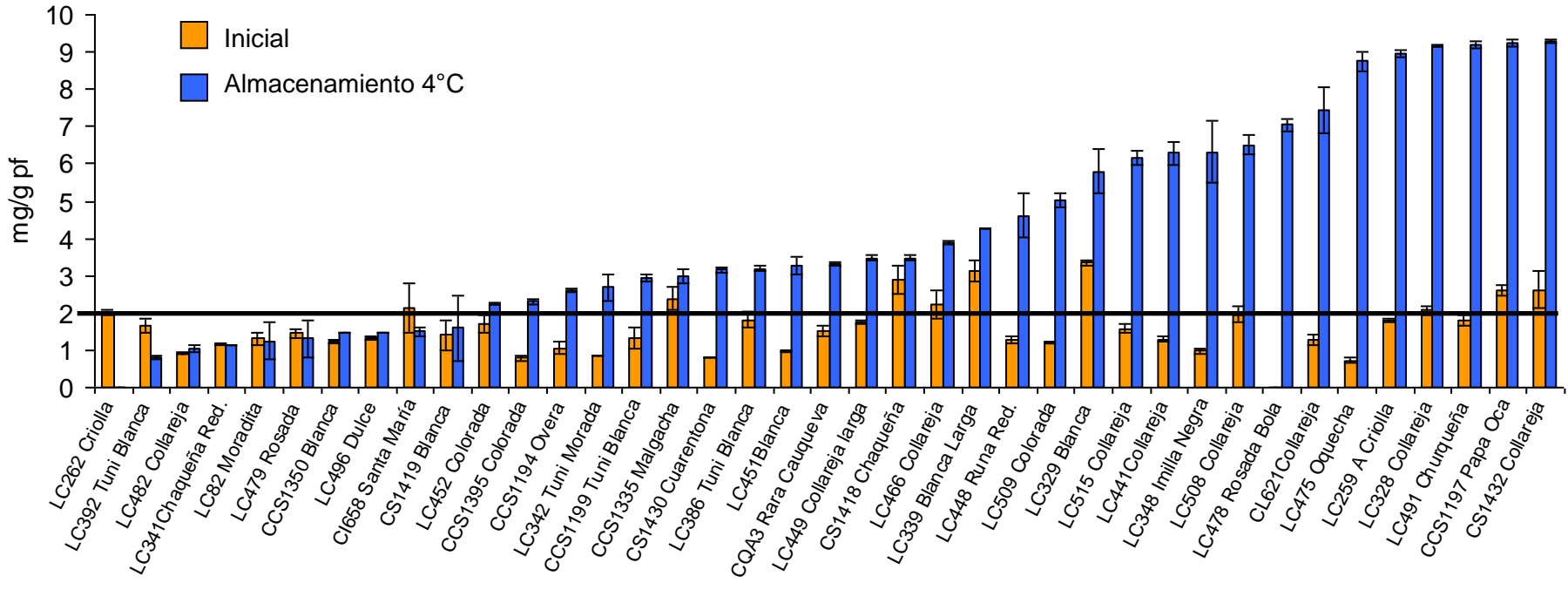


Variaciones alélicas de StI002 y StI057

- Se amplificó por PCR con iniciadores de StI002 y StI057 (Feingold *et al.* 2005). Se realizó electroforesis en geles desnaturalizantes de poliacrilamida los cuales se revelaron por tinción con plata.
- Se determinó la asociación entre la concentración de AR con las variaciones alélicas encontradas mediante el test estadístico de *Kruskal Wallis*.

Variación del contenido de AR con el almacenamiento a baja temperatura

Azúcares reductores en tubérculo






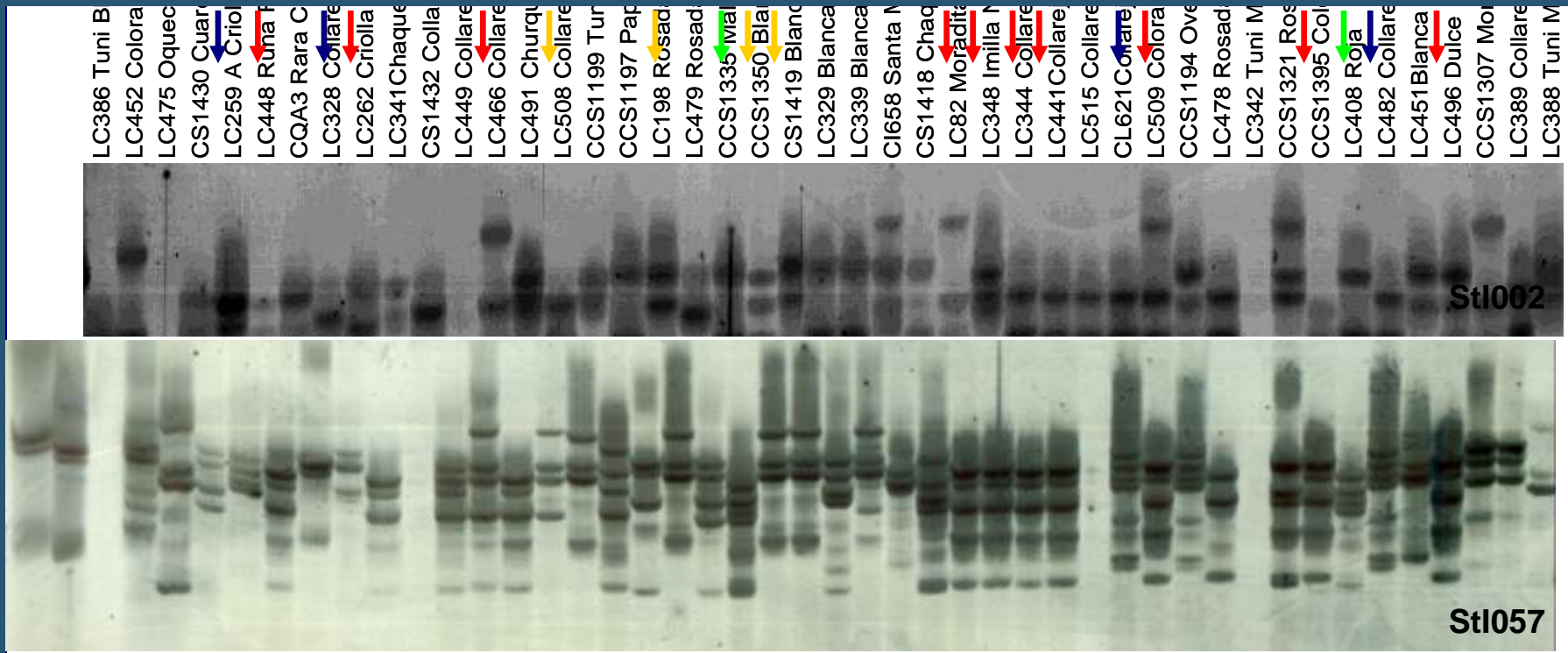
Concentración de AR en tubérculos. Se cuantificaron los AR a la cosecha y luego del almacenamiento a 4°C durante dos semanas. La Línea indica el valor máximo de AR (2mg/g pf) aceptable por la industria procesadora de papas fritas.

Se identificaron 23 patrones electroforéticos.

El índice de diversidad fue de 0,91.

En general, genotipos que presentaron patrones genéticos iguales tuvieron un comportamiento fenotípico similar:

-  Bajo contenido de AR luego del almacenamiento a baja temperatura.
-  Alto contenido de AR luego del almacenamiento a baja temperatura.
-  Alto contenido de AR a la cosecha.



Variación alélica revelada por StI002 y StI057 en 47 genotipos de la ssp. *andigena*. Electroforesis en gels de poliacrilamida de los microsátélites StI002 y StI057.

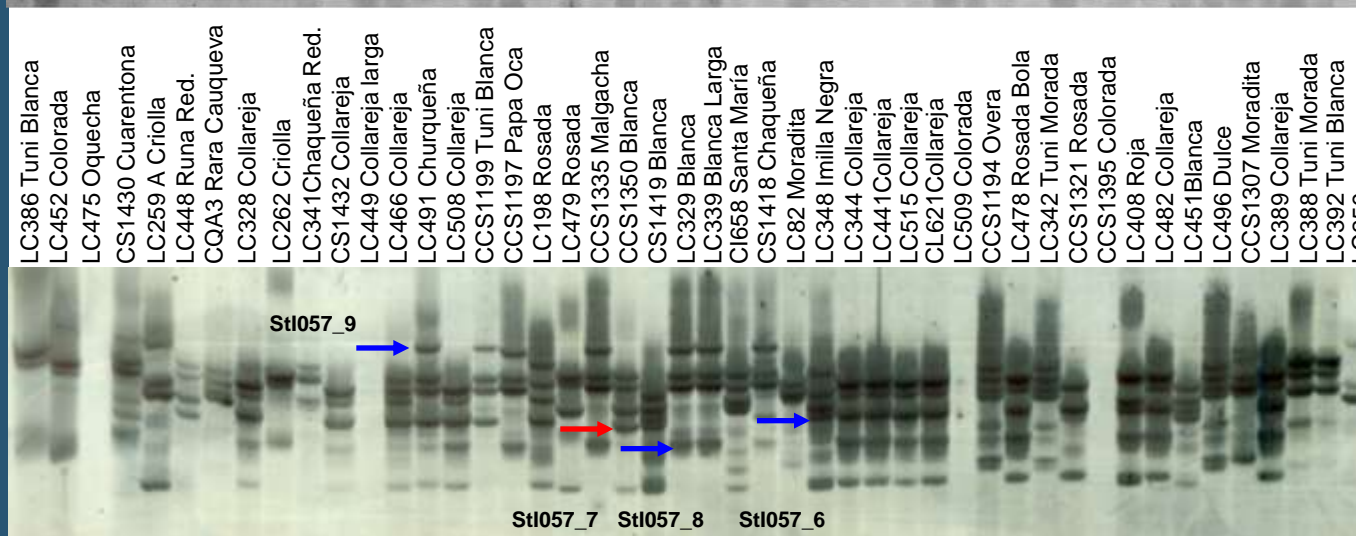
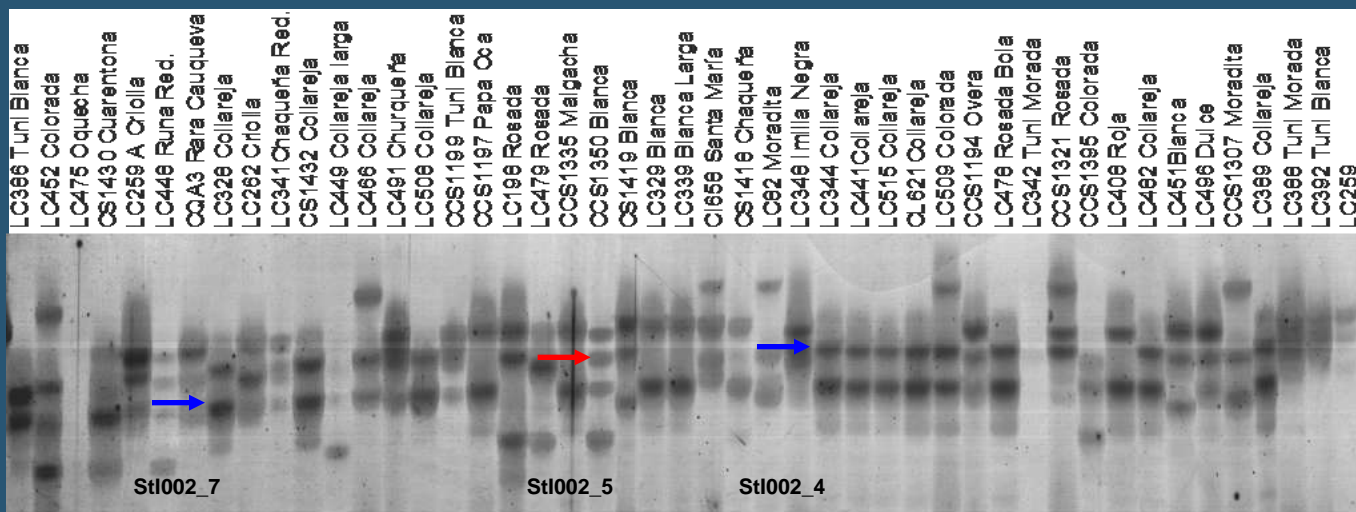
- Se identificaron 9 alelos para StI002 y 10 para StI057 en los genotipos analizados, los cuales se corresponden a los reportados previamente por Colman (2009)

Alelos de StI002 y StI057 asociados con el contenido de AR:

Alelos asociados al contenido de AR en tubérculos almacenados a baja temperatura. Niveles de significancia:
*:0.1 **:0.05 ***:0.01 ****:0.005 *****:0.001 *****:0.0005 *****:0.0001

Alelo	Presencia del alelo (1)		Ausencia del alelo (0)		Significancia Test de t
	AR mg/g pf (promedio)	n° de individuos	AR mg/g pf (promedio)	n° de individuos	
StI002_4	5,87	16	2,89	21	***
→ StI002_5	2,1	13	5,30	24	****
StI002_7	4,77	28	2,33	9	***
StI057_6	5,38	17	3,18	20	***
→ StI057_7	2,05	8	4,78	29	***
StI057_8	5,74	18	2,71	19	*****
StI057_9	5,56	9	3,75	28	*

Estos alelos también se asociaron a la diferencia entre el contenido de AR inicial y post-almacenamiento. Cabe destacar, que los alelos StI002_5, StI057_6, StI057_8 y StI057_9 también se asociaron al contenido de AR inicial de los tubérculos.



Variación alélica revelada por StI002 y StI057 en 47 genotipos de la ssp. *andigena*. Electroforesis en geles de poliacrilamida de los microsatélites StI002 y StI057. Las flechas indican los alelos asociados a un bajo (flechas rojas) o a un alto (flechas azules) contenido de AR de los tubérculos.

Conclusiones

- Los genotipos de la ssp. *andigena* estudiados presentaron respuestas variables frente al almacenamiento a baja temperatura, identificándose algunos resistentes al endulzamiento inducido por frío.
- Se observó una alta diversidad para los genes estudiados, encontrándose alelos asociados al contenido de AR luego del almacenamiento a baja temperatura.
- Dos alelos estuvieron asociados con menores valores de AR luego del almacenamiento. Los mismos son candidatos para ser utilizados en la selección asistida por marcadores en el mejoramiento de variedades de papa con buena aptitud industrial.



Muchas Gracias por su atención



Silvana Colman

Silvina Divito

Martín Carboni

Patricia Suárez

Florencia Ialonardi

Laboratorio de Calidad y
Tecnología Poscosecha.
Propapa.



M. Cristina Monti

Banco de Germoplasma
de Papa y Forrajeras



Ariana Digilio

Marcelo Atencio

Andrea Clausen