

# IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE VARIEDADES TRADICIONALES DE CASTAÑO EUROPEO EN EL MONTE DE MOURA

La Indicación Geográfica Protegida de “Castaña de Galicia” está integrada por el conjunto de variedades locales de castaña seleccionadas históricamente por los agricultores gallegos debido a su gran calidad para consumo humano, descritas y caracterizadas tanto morfológica como genéticamente. Constituyen un patrimonio fitogenético irremplazable y reciben la definición legal de *Variedades de conservación*.

En este proyecto, el Centro de Investigación Forestal Lourizán llevará a cabo la identificación genética del 3% de los castaños del Souto de Moura con el fin de estudiar su estructura varietal e identificar las principales variedades de uso tradicional en esta zona.

## INDICACIÓN GEOGRÁFICA PROTEGIDA “CASTAÑA DE GALICIA”

Sabor dulce y textura no harinosa

Pericarpio (cáscara) fino, marrón claro y brillante

Epispermo (membrana) fino que penetra ligeramente en el fruto y se separa fácilmente

Muy bajos porcentajes de rajado (4.5%) y tabicado (2.1%). No se aceptan más del 12% de frutos tabicados

Porcentaje medio de carbohidratos/materia seca del 59.5%. No se acepta si es menor del 55%

Humedad una vez recolectada del 50-60%

Número de frutos por erizo igual o inferior a tres

El número máximo de frutos por kilo ha de ser menor o igual a 120 en castaña fresca y 200 en castaña congelada.

En cada envase con IGP “Castaña de Galicia” sólo se admite un 5% de frutos que no cumplan todas las especificaciones anteriores.

## PROYECTO DE IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE VARIEDADES TRADICIONALES DE CASTAÑO POR SECUENCIACIÓN DE MICROSATÉLITES

### LA IMPORTANCIA DE LA IDENTIFICACIÓN VARIETAL LOCAL

Los árboles de los souts tradicionales son variedades, generalmente de la zona, de *Castanea sativa* (castaño europeo) injertadas sobre castaños nacidos de semillas locales para favorecer su compatibilidad.

Debido al avance de la tinta, en las nuevas plantaciones de zonas afectadas por esta enfermedad es conveniente emplear portainjertos resistentes; la mayoría de los clones híbridos disponibles en vivero son cruces de *C. sativa* y *Castanea crenata* (castaño japonés), y sobre ellos se injertan las variedades de fruto. Estos portainjertos presentan diferentes grados de compatibilidad al injerto, vigor, aptitud a la propagación vegetativa, tolerancia al encharcamiento, a la sequía estival y al frío, aunque en general son sensibles a estos dos últimos factores.

En este estudio, CIF Lourizán caracterizará una muestra representativa de los castaños del souto de Moura con el fin de identificar las principales variedades cultivadas en esta zona.

### ¿QUÉ ES UN MICROSATÉLITE?

Los microsatélites o SSR son secuencias de ADN de 1-6 pares de bases que se repiten de forma consecutiva un número elevado y concreto de veces para cada especie, variedad y población de castaño. La longitud de los microsatélites en el genoma de cada especie y variedad es diferente, posibilitando así su identificación mediante la comparación con una base de datos que permite cotejar e identificar las muestras analizadas, conociéndose así la identidad clonal y por tanto la especie, variedad y población, o el tipo de híbrido.

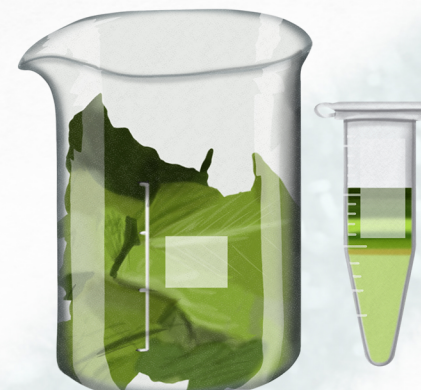


## ETAPAS DEL ANÁLISIS DE IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE VARIEDADES DE CASTAÑO

### MUESTREO

Se estudian las clases diametrales de los castaños del souto intentando asegurarse de que son individuos previamente injertados, y se recogen muestras aleatorias de árboles con diferentes diámetros a lo largo de todo el terreno; se muestrearán el 3% de los castaños del souto, analizándose un total de 95 ejemplares. Se tomarán muestras de las zonas alta y baja de la planta, para comprobar que son árboles con portainjerto e injertos. Se muestrean hojas en primavera-verano, y yemas en otoño-invierno.

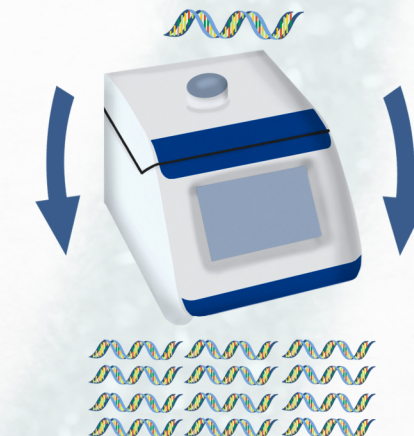
### EXTRACCIÓN DE ADN



El ADN es extraído y aislado de los diferentes tipos de muestra (hojas, brotes, yemas) empleando un kit de DNAsa, que genera la rotura de las células, la separación de las proteínas y la obtención del ADN nuclear. Para que este proceso pueda realizarse, la muestra vegetal ha de tratarse previamente de forma mecánica, dividiéndola en fragmentos pequeños sobre los que puedan actuar los compuestos del kit de extracción.

### AMPLIFICACIÓN POR PCR

Para poder diferenciar dos microsatélites que se distinguen sólo en su número de repeticiones, necesitamos aumentar la cantidad de esas secuencias genéticas para que sean detectables. Para ello se realiza una PCR: se diseñan cebadores, que son pequeños fragmentos de ADN complementarios a las regiones que flanquean el microsatélite, y que permiten amplificar (producir un alto número de copias) el mismo. Mediante la adición de los componentes del ADN y proteínas de secuenciación, se generan múltiples copias específicas de esas secuencias que queremos analizar y determinar.



### SECUENCIACIÓN Y ANÁLISIS



Los resultados se analizan mediante el software STRUCTURE, que compara los microsatélites de nuestras muestras con una base de datos de diferentes especies de castaño para determinar a qué variedad tradicional de castaño europeo pertenece la muestra. Esto es posible gracias a la completa base de datos que CIF Lourizán ha ido recopilando a lo largo de sus investigaciones acerca de esta especie.

