

## PUESTA A PUNTO DE LA TÉCNICA RAPD-PCR PARA EL ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES DE LA RAZA F DE JOPO DE GIRASOL (*O. cumana*)

MOLINERO-RUIZ, M.L.; MELERO, J.M.

Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C, Alameda del Obispo s/n, Apdo. 4084, 14080 Córdoba. E-mail: ag2morum@uco.es

El jopo de girasol (*O. cumana*) es la principal enfermedad del cultivo en España, pudiendo causar pérdidas de cosecha de hasta un 50%. El método de control más eficaz es la incorporación de resistencia en los híbridos de girasol cultivados. No obstante, el patógeno evoluciona hacia razas de mayor virulencia. A mediados de los 90 se identificó la raza más virulenta hasta el momento (raza F) y en los últimos años su frecuencia ha aumentado en todas las zonas de cultivo de girasol. Existen indicios de que poblaciones de la raza F de Castilla La Mancha no presentan el mismo patrón de virulencia que otras poblaciones de Andalucía de la misma raza. La comparación entre poblaciones de *O. cumana* de la raza F puede llevarse a cabo mediante la caracterización de sus virulencias sobre genotipos del huésped portadores de resistencia de diferente origen, pero también mediante el uso de marcadores RAPD, los cuales pueden generar patrones de bandas con polimorfismos de interés que permitan agrupar las poblaciones en función de su procedencia geográfica o de su virulencia sobre material resistente. En el presente trabajo se planteó el análisis de la diversidad genética de poblaciones de la raza F de jopo mediante marcadores RAPD. Se incluyeron seis poblaciones de *O. cumana* de Andalucía y dos de Castilla - La Mancha, todas ellas recogidas sobre la línea de girasol NR5, portadora del gen *Or5* de resistencia a la raza E. Se eligió un método adecuado para la extracción del ADN genómico total de seis plantas de cada una de las poblaciones. Para efectuar las reacciones RAPD-PCR se ensayaron los factores: temperatura de hibridación, concentración de  $MgCl_2$ , unidades de polimerasa y cantidad de ADN molde en el volumen de reacción. Las reacciones que aportaron resultados de mayor consistencia se llevaron a cabo con 20 ng de ADN genómico, 2 mM de  $MgCl_2$  y 0.5 unidades de polimerasa. La temperatura de hibridación más adecuada se estableció en 36°C. Tres de los 44 iniciadores ensayados amplificaron el ADN de las ocho poblaciones y generaron polimorfismos de bandas de tamaños entre 240 y 1400 pb. Una vez ensayado un número mayor de iniciadores y comprobada la consistencia de los resultados para los que resulten de interés, se elaborará un dendograma que agrupe las poblaciones en función de su similitud. La agrupación de las poblaciones establecida se relacionará con su virulencia y/o procedencia geográfica.