

## 6 | La identificación para el registro de variedades: examen técnico y descriptores morfológicos y moleculares

José M. Alonso<sup>1</sup>, David Calvache<sup>2</sup>, Jesús Mérida<sup>3</sup>, Luis Salaíces<sup>4</sup> y Ángel Fernández i Martí<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA)

<sup>2</sup> Centro de Evaluación de Variedades de Valencia, INIA

<sup>3</sup> Centro de Evaluación de Variedades de Sevilla, INIA

<sup>4</sup> Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente

<sup>5</sup> Genome Center, University of California, Davis, EE UU

### 6.1. Antecedentes

### 6.2. El registro español de variedades vegetales

6.2.1. Tipos de registros

6.2.2. El derecho del obtentor

6.2.3. La excepción del agricultor

6.2.4. Otras limitaciones al derecho del obtentor

6.2.5. Duración del derecho del obtentor

6.2.6. Vulneración de los derechos del obtentor

### 6.3. El examen técnico de variedades

6.3.1. Examen técnico de variedades de hortícolas

6.3.2. Examen técnico de variedades de frutales

6.3.3. Examen técnico de variedades de cultivos extensivos

### 6.4. La identificación molecular

### 6.5. Referencias



## 6.1. Antecedentes

Como se expone en el Capítulo 1, la mejora genética tiene como objetivo fundamental la obtención de nuevas variedades que resuelvan los problemas actuales del cultivo. Evidentemente, toda nueva variedad, antes de ser ofrecida al mercado, debe quedar perfectamente definida para su reconocimiento en todos los niveles de su utilización, desde el productor de semillas o el viverista que la propagan para ofrecerla a los agricultores para su cultivo, a estos mismos productores, al sector comercial y finalmente al consumidor. Por lo tanto, la descripción de una variedad no sólo es un paso esencial en su registro oficial, con todos los requisitos que se analizan en el Capítulo 8, sino también una definición de sus características para conocimiento de todos los sectores involucrados en su producción y comercialización, ya que tienen un interés directo en su reconocimiento, definido por la posibilidad de disponer de su "carnet de identidad" para su perfecta caracterización. En una nueva variedad se ha acumulado todo el avance tecnológico logrado mediante los trabajos de mejora.

A lo largo de los años se han ido definiendo los caracteres más significativos para la identificación varietal, siendo especialmente demostrativo el ejemplo de la vid, en el que se han desarrollado amplias descripciones ampelográficas para la caracterización de las variedades, en una discusión permanente sobre los caracteres más relevantes en la discriminación de las diferencias entre variedades. Hay que tener en cuenta que para el registro de una nueva variedad, como también se expone en el Capítulo 8, esta nueva variedad debe superar un examen técnico que demuestre que es diferente, uniforme y estable (examen DUS), para el que se deben definir los caracteres que realmente permitan establecer si una variedad supera o no este examen.

## 6.2. El registro español de variedades vegetales

Previo al establecimiento del registro europeo de variedades vegetales que se expone en el capítulo 8, en España ya venía funcionando un sistema de registro y protección que sigue en vigor de forma paralela y complementaria a la Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales (OCV), adaptando su funcionamiento a las nuevas normativas establecidas por la Unión Europea a lo largo de los años.

En el marco español, la protección de variedades vegetales comienza con la **Ley 11/1971 de 30 de marzo**, de Semillas y Plantas de Vivero en el que definen dos puntos fundamentales de la labor del Ministerio de Agricultura, ya que debía establecer un Registro de Variedades Comerciales de de Plantas y recomendaciones o restricciones en el uso de las mismas, así como un Registro de Variedades Protegidas (Artº 51-e), así como las normas para la debida protección de los derechos del obtentor de nuevas variedades (Artº 5º-d).

A la luz del desarrollo legislativo en relación a la protección de las variedades vegetales, actualmente coexisten tres sistemas de protección en España:

1.–La **Ley 12/1975 de 12 de marzo**, cuyas normas siguen de aplicación para los títulos concedidos conforme a dicha ley, con las excepciones establecidas por la ley posterior. Entre las excepciones que no se aplican cabe destacar el privilegio del agricultor, en conformidad con el Acta de 1972 de la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV).

2.–La **Ley 3/2000, de 7 de enero**, de régimen jurídico de la protección de las obtenciones vegetales, en conformidad con el Acta de 1991 de la UPOV.

3.–La protección Comunitaria establecida en el **Reglamento (CE) 2100/94, del Consejo, de 27 de julio**, relativo a la protección comunitaria de las obtenciones vegetales, de aplicación en todo el territorio de la Unión Europea, y que en materia de infracciones, acciones judiciales y sanciones remite a las legislaciones nacionales en materia sobre derechos de obtentor del país en que se cometa el delito o la infracción, conforme al Acta de 1991 de la UPOV.

La Autoridad competente para la tramitación y resolución de los procedimientos de concesión de los títulos de obtención vegetal es el Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente a través de la **Oficina Española de Variedades Vegetales (OEVV)**. Tramitados los expedientes por la OEVV, son estudiados por la **Comisión Nacional de Protección de Obtenciones Vegetales** que emite las propuestas de concesión o denegación del derecho al Ministro, autoridad que finalmente concede o deniega el derecho

Las Comunidades Autónomas ejercen las facultades relativas a la recepción de las solicitudes y a la apreciación del cumplimiento o falta de cumplimiento de los requisitos formales de las mismas. La potestad sancionadora se ejerce por la Comunidades Autónomas y por la Administración General del Estado, de acuerdo con sus respectivas competencias.

Los requisitos para la inscripción de una variedad son los de novedad, distinción, estabilidad y homogeneidad, a los que va dirigido especialmente el examen técnico, pero también se debe cumplir con la obligación de proponer una denominación adecuada y se deben abonar las tasas correspondientes.

El sistema "sui generis" de protección del derecho del obtentor establecido en España en la Ley 3/2000, de 7 de enero de Régimen Jurídico de la Protección de las Obtenciones Vegetales, está abierto para todos los géneros y especies vegetales.

En el marco español de la protección de variedades vegetales queda prohibida la protección por el sistema de patentes. Así mismo se establecen una serie de normas en relación al derecho del obtentor, a las limitaciones a este derecho, a su duración y a sus posibles vulneraciones, así como al beneficio del agricultor.

### 6.2.1. Tipos de registros

Tanto la legislación española como la de la UE establecen varias categorías de variedades que corresponden a diferentes estatus legales. El obtentor deberá decidir cuál es la opción más adecuada, dependiendo del origen del material de partida, del método de obtención, de las innovaciones introducidas, de la previsión de la extensión de su uso, y del grado de exclusividad al que se aspire en la posible comercialización de la misma. Las categorías actualmente existentes son:

**Variedad comercial.** Da derecho a comercializar la variedad en toda la UE.

**Variedad protegida (con título de obtención vegetal).** Da el derecho de **exclusividad** en la multiplicación y comercialización de la variedad en el ámbito geográfico de un Estado concreto, o en el ámbito de la UE. Es compatible y complementario con la opción anterior. Se puede aplicar también a variedades no comerciales como por ejemplo líneas parentales.

**Variedad de conservación.** Da derecho a comercializar la variedad en un ámbito geográfico reducido. Está pensado para variedades tradicionales específicas de una comarca. Incompatible con la protección.

**Variedad sin valor intrínseco o para su cultivo en condiciones determinadas** (Más conocida como variedad para amateur) Es la categoría inferior en cuanto a exigencias de calidad. De hecho se proyecta sustituir en la legislación, el nombre por la expresión "material de reproducción vegetal con nichos de mercado", probablemente para no entrar en conflicto con el concepto de variedad que implica unas exigencias de uniformidad. Es una categoría permitida con objeto de favorecer la biodiversidad, que se puede comercializar sólo en pequeños envases y cantidades limitadas.

Los requisitos de las variedades para su registro es que sean distintas (de todas las demás variedades notoriamente conocidas), homogéneas y estables (el nivel de homogeneidad, y por tanto de estabilidad, exigibles es más alto para variedades comerciales y protegidas que para variedades de conservación y para cultivo en condiciones determinadas). En el caso de las especies de gran cultivo se exige superar una prueba de valor agronómico. Además, para obtener el título de Obtención Vegetal (variedad protegida) se exige que la variedad sea nueva, es decir que no haya sido comercializada con anterioridad.

### 6.2.2. El derecho del obtentor

La protección de una variedad da el derecho exclusivo al obtentor de llevar a cabo las siguientes operaciones: la producción o la reproducción (multiplicación) del material vegetal; su acondicionamiento con los fines de la reproducción o de la multiplicación; la oferta en venta o la venta o cualquier otra forma de comercialización; la exportación, la importación, o la posesión para cualquiera de los fines mencionados en los apartados anteriores. También se requiere la autorización

del obtentor para los actos mencionados anteriormente realizados respecto del producto de la cosecha, siempre que **se haya obtenido por utilización no autorizada de material de reproducción o multiplicación de la variedad protegida**, y el obtentor no haya podido ejercer razonablemente su derecho en relación con dicho material de reproducción o multiplicación. Igualmente **se extiende este derecho a los productos fabricados con el producto de la cosecha**, en las mismas condiciones señaladas en el caso anterior.

Todos los actos que forman parte del contenido del derecho del obtentor vienen referidos únicamente a actuaciones realizadas respecto al material de reproducción o multiplicación. El derecho del obtentor no se extiende a los actos relativos al material de su variedad que no impliquen una nueva reproducción o multiplicación.

### 6.2.3. La excepción del agricultor

Los agricultores están autorizados a utilizar con fines de propagación en sus *propias explotaciones* el producto de la cosecha obtenido de la siembra en ellas de material de propagación de una variedad protegida que haya sido adquirida lícitamente y no sea híbrida ni sintética. Además se define lo que se entiende por "explotación propia" y por "agricultor". Este derecho no se aplica a todas las especies, sino sólo a las siguientes: **especies forrajeras** (zulla, almortas, altramuz blanco, altramuz azul, altramuz amarillo, alfalfa, esparceta, guisantes, trébol de Alejandría, trébol persa, alholva, veza, haba, yeros y almortas), **cereales** (avena, cebada, arroz, alpiste, centeno, triticale, trigo blando, trigo duro, escaña mayor), **pataata, oleaginosas y textiles** (colza, nabina, linaza, excluido el lino textil) y **hortícolas** (lenteja, garbanzo, judías y guisantes).

En relación al derecho del agricultor, los pequeños agricultores no están obligados a pagar remuneraciones al titular del derecho, pero los demás agricultores están obligados a pagar al titular una remuneración, que será apreciablemente menor que la cantidad que se cobre por la producción, bajo licencia, de material de propagación de la misma variedad en la misma zona.

### 6.2.4. Otras limitaciones al derecho del obtentor

El derecho del obtentor no se extiende a los actos realizados en un marco privado con fines no comerciales, a los actos realizados a título experimental ni a los actos realizados a los fines de la creación de nuevas variedades.

También se establecen limitaciones por interés público, que deben ser establecidas por Real Decreto, acordado por el Consejo de Ministros a propuesta del Ministro de Agricultura y Medio Ambiente. Se consideran motivos de interés público casos como los que la iniciación, el incremento o la generalización de la explotación de la variedad protegida, o la mejora de las condiciones en que tal explotación se realiza, sean de primordial importancia para la salud pública o para la defensa nacional o para el medio ambiente; que la falta de explotación o la insuficiencia en

calidad o en cantidad de la explotación realizada, implique graves perjuicios para el desarrollo económico o tecnológico del país; o que las necesidades de abastecimiento nacional así lo exijan.

Cuando existan estas razones se podrá conceder **licencias obligatorias** a terceros, adoptando el Gobierno las medidas necesarias para que los titulares de los derechos afectados reciban una compensación económica equitativa.

Cuando un **obtentor no pudiera obtener o explotar un derecho de obtención vegetal** sin vulnerar una patente anterior, podrá solicitar una licencia obligatoria no exclusiva de la invención protegida por la patente, en la medida en que dicha licencia sea necesaria para la explotación de la variedad vegetal que deba protegerse, mediante el pago de una compensación económica adecuada al titular de la patente. Cuando se conceda una licencia de este tipo, el titular de la patente tendrá derecho a una licencia recíproca.

Cuando el **titular de una patente de invención biotecnológica** no pudiera explotarla sin infringir un derecho de obtención vegetal anterior, podrá solicitar una licencia obligatoria no exclusiva de la variedad vegetal protegida, mediante el pago de una compensación adecuada al titular del derecho de obtención vegetal. Cuando se conceda una licencia de este tipo, el titular del derecho de obtención vegetal tendrá derecho a una licencia recíproca.

#### 6.2.5. Duración del derecho del obtentor

El derecho del obtentor se extiende **hasta el final** del vigésimo quinto año natural o, en caso de variedades de vid y de especies arbóreas, hasta el final del trigésimo año natural.

Durante el periodo comprendido **entre la presentación de la solicitud y la concesión del derecho**, el solicitante de un título de obtención vegetal tiene derecho a percibir una compensación económica de quien, durante el mencionado periodo, haya realizado actos que, tras la concesión del derecho, requieran la autorización del obtentor, siendo obligatorio que el titular ponga en conocimiento del tercero la existencia de la solicitud. Si el derecho de obtentor es finalmente **rechazado** el solicitante, salvo pacto en contrario, esta obligado a **devolver al tercero** las cantidades recibidas.

#### 6.2.6. Vulneración de los derechos del obtentor

El titular del derecho del obtentor puede ejercitar ante los órganos de la jurisdicción ordinaria **las acciones civiles y penales** que correspondan contra quienes lesionen su derecho y exigir las medidas necesarias para su salvaguardia. El delito penal se ha configurado en el Código Penal español como **delito perseguible de oficio**, lo que quiere decir que no es necesario la denuncia del agraviado para su persecución.

Las infracciones administrativas pueden dar lugar a sanciones económicas, pérdida de la condición de productor de semillas o de plantas de vivero, decomiso del material vegetal, precintado de locales, y otras medidas precautorias.

### 6.3. El examen técnico de variedades

La Autoridad Competente en materia de examen técnico es el Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente. El ensayo para el examen técnico implica el cultivo de la variedad. La autoridad competente puede realizar el ensayo DHE por sí misma o encargarlo a las Comunidades Autónomas o a otras instituciones nacionales o extranjeras que desarrollen tareas similares. En los casos que se determinen, se pueden utilizar los resultados de los exámenes técnicos realizados en otro país con el que España mantenga acuerdos sobre la protección de derechos de obtentor y siempre y cuando técnicamente sea posible con las debidas garantías. En aquellos casos en que el examen técnico entrañe dificultades la autoridad competente podrá acordar que se tenga en cuenta los resultados de los ensayos de cultivo o de otros ensayos ya efectuados por el obtentor.

Las directrices del examen técnico son las establecidas por la Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales (OCV). Cuando la Oficina no las haya establecido, son las directrices de examen de UPOV que se encuentren en vigor en el momento de la realización del ensayo. Cuando las directrices de examen no se hayan establecido por la OCV ni por la UPOV, se utilizan las directrices nacionales.

Los requisitos del material vegetal para el examen técnico de los ensayos DHE son los equivalentes al material certificado en lo que se refiere a germinación, pureza específica, humedad y sanidad; el material no debe tener tratamiento alguno; se debe entregar sólo el primer año; es obligatoria la entrega de los componentes hereditarios en caso de variedades híbridas; se debe cumplir la legislación en vigor sobre medidas de protección contra la introducción y difusión en España y la Unión Europea de organismos nocivos para los vegetales o productos vegetales, así como para la exportación y tránsito hacia países terceros.

La autoridad competente tiene establecidos unos centros de ensayo de variedades especializados según las especies como se especifica en el Cuadro 6.1.

#### 6.3.1. Examen técnico de variedades de hortícolas

Sólo es necesario realizar el examen técnico en las tres primeras categorías de variedades: comerciales, protegidas y de conservación. En el caso de variedades para cultivo en condiciones determinadas, basta con una descripción presentada por el solicitante, basada en información de fuentes fiables. El examen técnico de especies hortícolas en España se realiza, por encargo de la OEVI en dos centros de examen, situados en Valencia y Madrid dependientes de INIA. Las especies exami-



**Cuadro 6.1.**—Centros que llevan a cabo los ensayos de identificación de variedades para la Oficina Española de Variedades Vegetales

CENTRO	ESPECIES
<b>Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) - SEVILLA</b>	<i>Brachypodium distachyon</i> (L.) (Brachipodium) <i>Brassica napus</i> L. (Colza) <i>Cicer arietinum</i> L. (Garbanzo) <i>Distichlis spicata</i> var. <i>yensen</i> (Distichlis) <i>Glycine max</i> (L.) (Soja) <i>Gossypium hirsutum</i> L. (Algodon) <i>Helianthus annuus</i> L. (Girasol) <i>Oryza sativa</i> L. (arroz) <i>Sorghum bicolor</i> (L.) (Sorgo) <i>Zea mays</i> L. (Maíz) <i>Zoysia matrella</i> (Zoysia) <i>Sinapis alba</i> L. (mostaza) <i>Lupinus angustifolius</i> L. <i>Carthamus tinctorius</i> L. (cártamo)
<b>Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) - MADRID</b>	<i>Allium sativum</i> L. (ajo) <i>Asparagus officinalis</i> L. (espárrago) <i>Avena sativa</i> L. (avena) <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>gemmifera</i> Zenker (col de bruselas) <i>Cucurbita moschata</i> Duchesne (calabaza moscada) <i>Hordeum vulgare</i> L. (cebada) <i>Phaseolus vulgaris</i> L. (judía) <i>Pisum sativum</i> L. (guisante) <i>Triticum eastivum</i> L. (trigo blando) <i>Triticum durum</i> Desf. (trigo duro) <i>Vicia ervilia</i> (L.) (yeros) <i>Vicia fava</i> L. (haba) <i>Cucurbita pepo</i> L. (calabacín) <i>Solanum melongena</i> L. (berenjena)
<b>Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) - VALENCIA</b>	<i>Allium cepa</i> (grupo Cepa) <i>Allium porrum</i> L. (puerro) <i>Borago oficinalis</i> L. (borraja) <i>Brassica oleracea</i> L. convar. <i>botrytis</i> (l.) Alef. var. <i>botrytis</i> (coliflor) <i>Brassica oleracea</i> L. convar. <i>botrytis</i> (l.) Alef. var. <i>cymosa</i> Duch (brocoli) <i>Capsicum annuum</i> L. (pimiento) <i>Cichorium endivia</i> L. (escarola) <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) (sandía) <i>Cucumis melo</i> L (melón) <i>Cucumis sativus</i> L. (pepino) <i>Daucus carota</i> L. (zanahoria) <i>Lactuca sativa</i> L. (lechuga) <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. (tomate) <i>Lycopersicon lycopersicum</i> (L.) × <i>Lycopersicon hirsutum</i> L. (tomate) <i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>sativus</i> (rabanito) <i>Spinacia oleracea</i> L. (espinaca)

CENTRO	ESPECIES
Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) – MURCIA	<i>Vitis</i> L. (vid)
Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Estación Experimental "Aula Dei"	<i>Prunus amygdalus</i> Batsch × <i>Prunus persica</i> Batsch <i>Prunus cerasifera</i> Ehrh. <i>Prunus insititia</i> L. <i>Prunus domestica</i> L. <i>Malus domestica</i> (Borkh.) Borkh. Patrones del género <i>Prunus</i> L.
Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA)	<i>Juglans regia</i> L. (nogal) <i>Juglans nigra</i> L. e híbridos (nogal) <i>Corylus avellana</i> L. (avellano)
Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA)	<i>Prunus dulcis</i> (Mill.) D.A. Webb = <i>Prunus amygdalus</i> Batsch (almendro) <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch (melocotonero, variedades medias y tardías).
Centro de Semillas y Plantas de Vivero. Diputación de Aragón	<i>Prunus avium</i> L. <i>Pyrus communis</i> L. <i>Cydonia oblonga</i> Mill
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) Unidad de Examen Técnico de Identificación Varietal (UETIV)	<i>Citrus</i> L. (cítricos en general) <i>Prunus persica</i> L. (melocotonero, variedades tempranas y muy tempranas) <i>Prunus armeniaca</i> L. (albaricoquero) <i>Prunus salicina</i> Lindl. y otros ciruelos diploides <i>Poncirus</i> L. e híbridos (patrones de cítricos)
Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Dpto. de Agronomía. Univ. de Córdoba	<i>Olea europea</i> L. (olivo)
Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Centro de Investigación y Fomento Agroalimentario	<i>Fragaria</i> L. ( <i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i> ) (fresa)
Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Tecnológico Neiker Tecnalia	<i>Solanum tuberosum</i> L. (patata)
Centro de Investigación de la Finca La Orden y Valdesequera	<i>Ficus carica</i> L. (higuera)

nadas en cada Centro y el número de variedades examinadas en los años 2004-2013 se reflejan en el Cuadro 6.2.

Los distintos protocolos (de la OCW, de la UPOV o el nacional) establecen los caracteres a observar, la forma y el momento de observarlos, los niveles de homo-

**Cuadro 6.2.**—Número de variedades de especies hortícolas examinadas en los Centro de examen de Valencia y Madrid.

<b>VALENCIA</b>	<b>Nº solicitudes 2004-2013</b>	<b>Nº variedades en C. común</b>	<b>MADRID</b>	<b>Nº solicitudes 2004-2013</b>	<b>Nº variedades en C. común</b>
Acelga	0	51	Ajo	15	113
Alcachofa	11	44	Berenjena	26	318
Apio	5	115	Berza	0	45
Borraja	0		Calabacín	40	649
Brocoli	5	198	Calabaza	1	32
Cardo	0	12	Col Repollo	4	1040
Cebolla	55	1019	Esparrago	11	80
Col China	0	82	Guisante	25	750
Coliflor	0	737	Haba	9	120
Escarola	0	260	Judía	92	1320
Espinaca	0	365			
Lechuga	114	2263			
Melon	151	994			
Nabo	4	156			
Pepino	65	1360			
Pimiento	235	2357			
Rabanito	2	410			
Sandia	49	481			
Tomate	411	3850			
Portainjertos Tomate	8	31			
Zanahoria	0	592			

geneidad exigibles, los caracteres de agrupación, que por ser más consistentes se utilizan para seleccionar las variedades de la colección que hay que incluir en los ensayos, y que por tanto el obtentor debe declarar en la solicitud rellenando un cuestionario técnico.

El examen técnico de variedades de especies hortícolas tiene algunas peculiaridades con respecto al de otros grupos de especies:

1. En el examen técnico de híbridos, no es necesario identificar ni por tanto presentar semilla de sus líneas parentales.
2. No se evalúa el valor agronómico.
3. En las especies hortícolas son de particular importancia los caracteres de resistencia a enfermedades, que son objetivo prioritario de la mejora en algunas de las más importantes, y cuya comprobación es una parte fundamental del examen técnico. Para comprobar la resistencia de la variedad a una determinada raza de una enfermedad, se realiza un ensayo biológico con inoculación y observación de síntomas, de acuerdo a un protocolo incluido en el protocolo técnico de la especie. También se testan en el mismo ensayo al menos una variedad testigo de susceptibilidad y una o más variedades como testigo de resistencia.

En enfermedades en las que están descritos marcadores moleculares predictores de resistencia, se pueden utilizar como herramienta de apoyo, pero no se consideran válidos a los efectos de descripción oficial de una variedad. Hay una excepción que es la resistencia al virus del bronceado en tomate, para el que se admite como oficial la prueba biomolecular, siempre que se compruebe sobre 20 plantas. Esta excepción se ha admitido tras haber comprobado varios países la correlación 100% entre los resultados de la prueba biomolecular y la biológica. Es de esperar que se pueda ir ampliando este criterio a algunas otras enfermedades, pero siempre que la resistencia dependa de un solo gen. En casos en que intervengan más genes, las pruebas biomoleculares se van haciendo más complicadas y pierden interés.

Las enfermedades más importantes que se testan en los exámenes técnicos realizados en España son:

**Para el tomate:** \**Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, razas 0,1,2, \**Verticillium dahliae*, \**Meloidogyne incognita*, \*Mosaico del tomate (ToMV) patotipo 0, Mosaico del tomate (ToMV) patotipos 1y2, *Fusarium oxysporum radialis lycopersici*, Virus del bronceado del tomate (TSWV), Virus de la cuchara (TYLCV) y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Otras enfermedades consideradas en el protocolo son: *Fulvia fulva* raza 0, grupos A,B,C,D,E, *Leveillula taurica*, *Oidium lycopersicum*, *Phytophthora infestans*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Ralstonia solanacearum*, *Stemphyllium* y Virus del torrado del tomate (ToTV).

**Para el pepino:** Mosaico del pepino (CMV), Oidio (*Podosphaera xanthii*) y *Corynespora cassiicol*. Otras enfermedades consideradas en el protocolo: Virus de las venas amarillas (CVYV), *Cladosporium cucumerinum*, *Pseudoperonospora cubensis* y *Erysiphe cichoriacearum*.

**Para la lechuga:** \*Mildiu (*Bremia lactucae*) razas (16,18,20,21,22,23,24,25,26,27 y28), Mildiu (*Bremia lactucae*) razas (2,5,12,17). Otras enfermedades consideradas en el protocolo: Mosaico de la lechuga (LMV) y *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* raza 1.

**Para el melón:** \**Fusarium oxysporum f.sp. melonis* razas 0, 1 y 2 y Virus del cribado (MNSV). Otras enfermedades consideradas en el protocolo: Oidio (*Podosphaera xanthii*) razas 1,2 y 5, Pulgón (*Aphis gossypii*), *Erysiphe cichoriacearum*, Mosaico del pepino (CMV), Virus de la papaya (PRSV) y Virus del mosaico del calabacín (ZYMV).

**Para la judía:** \*Antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) raza 6, Grasa (*Pseudomonas syringae phaseolicola*) raza 6 y Mosaico de la judía (BCMNV). Otras enfermedades consideradas en el protocolo: *Xanthomonas campestris*.

**Para el guisante:** *Fusarium oxysporum pisi* razas 1, 5, 6. Otras enfermedades consideradas en el protocolo: *Ascochyta pisi* raza C y *Erysiphe pisi*.

**Para el pimiento:** \*Tobamovirus patotipos 0, 1-2, 1-2-3, \*PVY patotipo 0 y Virus del bronceado del tomate (TSWV). Otras enfermedades consideradas en el protocolo: *Phytophthora capsici*, Mosaico del pepino (CMV) y *Xanthomonas campestris*.

**Para la sandía:** otras enfermedades consideradas en el protocolo: *Fusarium oxysporum niveum* y *Colletotrichum lagenarium*.

Los obtentores están obligados a declarar en la solicitud de registro, el comportamiento de la variedad con respecto a las enfermedades marcadas con asterisco. Las demás son de declaración voluntaria. Las resistencias enfermedades marcadas con asterisco y algunas otras importantes, como virus del bronceado en tomate y pimiento, virus del cribado del melón, se utilizan, junto con algunos caracteres morfológicos para hacer grupos de variedades que ayudan al manejo de la colección de referencia de las especies grandes, subdividiéndola en conjuntos de variedades más reducidos, a los efectos de seleccionar las variedades con las que hay que comparar la variedad candidata para comprobar la distinción. Por tanto es muy importante declarar bien estas enfermedades obligatorias para no dilatar y encarecer el examen técnico.

Para ayudar a obtentores que no dispongan de medios para comprobar las resistencias de sus líneas y variedades, INIA ofrece servicios de testado biológico para todas las enfermedades de declaración obligatoria y algunas otras, así como algunas pruebas de marcadores moleculares predictores de genes de resistencia. Los precios de dichos servicios se publican junto con los demás precios públicos de INIA, en el BOE.

El examen técnico de las variedades hortícolas requiere normalmente 2 años de ensayo para comprobar la distinción y redactar una descripción de la variedad con un grado aceptable de precisión. En algunas especies en las que la evaluación de la distinción es más difícil por la gran cantidad de variedades dentro del mismo grupo, es necesario un tercer año de ensayo para algunas variedades. Actualmente, al solicitar el registro de una variedad como variedad comercial, se solicita simultáneamente una autorización provisional de comercialización que se concede automáticamente, con sólo haber presentado correctamente la solicitud de registro

con el cuestionario técnico debidamente relleno y haber entregado la muestra de semillas, con la cantidad requerida, a la cámara de conservación de semillas de INIA. La autorización provisional permite comercializar la variedad en toda la UE sin límite de cantidad. Tiene una duración de 3 años. En consecuencia en casi todos los casos, el examen técnico finaliza sin haber interrumpido la comercialización de la variedad.

El informe final del examen contiene un documento sobre los resultados de la distinción, homogeneidad y estabilidad de la variedad, y una descripción oficial de la variedad donde además de la descripción de todos los caracteres que figuran en el protocolo técnico, se informa de cuál es la variedad más parecida y se detallan las diferencias entre ambas.

El índice histórico medio de variedades hortícolas evaluadas en el centro del INIA en Valencia con resultado negativo del examen técnico, es del 13%, de las que un 10% fue debido a insuficiente homogeneidad y un 3% a su no distinción con respecto a otra variedad.

### 6.3.2. Examen técnico de variedades de frutales

El Examen Técnico de los nuevos clones frutales, tanto de variedades como de patrones, presenta un conjunto de peculiaridades, sobre todo por tratarse de cultivos leñosos plurianuales, con un período improductivo más o menos largo dependiendo de la especie. Ello condiciona entre otras cosas la duración del examen, ya que se deben realizar las observaciones para la descripción varietal durante un mínimo de dos ciclos productivos. En consecuencia, en la mayoría de especies del género *Prunus*, la conclusión del examen DHE requiere de cuatro a cinco años desde la plantación en la parcela de examen. En el olivo, sin embargo, este período de examen puede alargarse mucho, dependiendo de la variedad, de los 8 a incluso más de 12 años. Otra peculiaridad es que la propagación de las nuevas obtenciones es vegetativa, de manera que el obtentor debe enviar su variedad candidata, dependiendo también de la especie, o bien en varetas, esquejes autoenraizados, o la variedad ya injertada en un patrón específico, indicado en la directriz de examen (Cuadros 6.3 y 6.4).

Otro requisito fundamental que debe cumplir el material vegetal que el obtentor entrega al centro de examen es su perfecto estado fitosanitario, requisito que debe ser una premisa en todo tipo de material vegetal élite de los programas de mejora. Las plantas deberán estar visiblemente sanas y libres de enfermedades transmisibles por injerto y por otros vectores de transmisión. Es de exigencia común que el material vegetal vaya acompañado de un certificado de análisis serológico de laboratorio autorizado u oficial, con resultado negativo para las virosis fijadas en cada directriz de examen. En algunas especies, como la vid, se exige que la planta esté certificada. Además, el material vegetal entregado al centro de examen no habrá sido objeto de tratamiento químico no autorizado.

**Cuadro 6.3.**—Directrices de examen para las principales especies leñosas alimentarias

Nombre común	Taxón botánico	UPOV	CPVO	Carac- teres	Entrada en vigor
Manzano	<i>Malus domestica</i> Borkh.	TG/14/9	CPVO-TP 014/2	57	Marzo 2006
Peral	<i>Pyrus communis</i> L.	TG/15/3	CPVO-TP 015/1	65	Marzo 2003
Cerezo	<i>Prunus avium</i> (L.) L.	TG/35/7	CPVO-TP 035/2	41	Noviembre 2006
Guindo	<i>Prunus cerasus</i> L.	TG/230/1	CPVO-TP 230/1	47	Noviembre 2006
Ciruelo Europeo	<i>Prunus domestica</i> L.	TG/41/1	CPVO-TP 041/1	62	Noviembre 2003
Ciruelo japonés	<i>Prunus salicina</i> Lindl.	TG/84/4	CPVO-TP 084/2	61	Enero 2012
Melocotonero	<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	TG/53/7	CPVO-TP 053/2	68	Enero 2012
Almendro	<i>Prunus dulcis</i> (Mill.) D. A. Webb	TG/56/4	CPVO-TP 056/1	44	Enero 2011
Albaricoquero	<i>Prunus armeniaca</i> L.	TG/70/4	CPVO-TP 070/2	57	Marzo 2008
Patrones <i>Prunus</i>	<i>Prunus</i> L.	TG/187/1	CPVO-TP 187/1	39	Marzo 2008
Olivo	<i>Olea europaea</i> L.	TG/99/4	CPVO-TP 099/1	41	Enero 2011
Mandarino	<i>Citrus</i> L. Group 1	TG/201/1	CPVO-TP 201/2	110	Noviembre 2009
Naranja	<i>Citrus</i> L. Group 2	TG/202/1	CPVO-TP 202/1	95	Noviembre 2004
Limonero y limas	<i>Citrus</i> L. Group 3	TG/203/1	CPVO-TP 203/1	79	Noviembre 2004
Pomelo	<i>Citrus paradisi</i> , <i>Citrus grandis</i> (L.)	TG/204/1	CPVO-TP/204/1	94	Marzo 2014
Vid	<i>Vitis</i> L.	TG/50/9	CPVO-TP 050/2	44	Enero 2008
Higera	<i>Ficus carica</i> L.	TG/265/1		78	Marzo 2010
Nogal	<i>Juglans</i> L -				
Avellano	<i>Corytus avellana</i> L.				
Caquí	<i>Diospyros kaki</i>				
Granado	<i>Púnica granatum</i> L.				
Nispero					

**Cuadro 6.4.**—Especificaciones de entrega de material vegetal al centro de examen.

Especies	Fecha límite de presentación de solicitudes	Material necesario para los ensayos	Fecha límite de entrega del material
Manzano	1 de diciembre	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Variedades obtenidas por cruzamiento, 10 plantas injertadas de un año sobre patrón clonal B.</li> <li>- Variedades obtenidas por mutación, 15 plantas injertadas de un año sobre patrón clonal M 26.</li> </ul>	10 de enero al 28 de febrero
Peral	1 de diciembre	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Variedades obtenidas por cruzamiento, 9 plantas injertadas de un año sobre patrón clonal membrillero BA 29 y en caso de incompatibilidad sobre peral MANTECOSA HARDY.</li> <li>- Variedades obtenidas por mutación, 15 plantas en las mismas condiciones que la anterior.</li> </ul>	Del 10 de enero al 10 de febrero
Membrillero	1 de diciembre	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Variedades obtenidas por cruzamiento, 9 plantas injertadas de un año sobre patrón clonal membrillero BA 29 y en caso de incompatibilidad sobre peral MANTECOSA HARDY.</li> <li>- Variedades obtenidas por mutación. 15 plantas en las mismas condiciones que la anterior.</li> </ul>	10 de enero a 10 de febrero
Albaricoquero	1 de noviembre	9 árboles injertados de un año sobre patrón clonal ADESOTO 101	Del 1 de diciembre a 31 de enero
Almendro	1 de noviembre	9 plantas injertadas de un año sobre patrón clonal GF677	10 de enero al 10 de febrero
Cerezo	1 de diciembre	9 plantas injertadas de un año sobre patrón clonal SANTA LUCÍA 64 (SL 64)	Del 10 de enero al 15 de febrero
Ciruelo europeo	1 de diciembre	10 plantas injertadas de un año sobre patrón clonal SAN JULIÁN A	Del 10 de enero al 28 de febrero
Ciruelo japonés	1 de noviembre	9 plantas injertadas de un año sobre patrón MARIANA 26-64	Del 1 de diciembre al 1 de enero
Melocotonero, nectarina (variedades medias y tardías)	1 de noviembre	10 plantas injertadas de un año sobre patrón clonal GF677	10 de enero al 10 de febrero
Melocotonero, nectarina (variedades tempranas)	1 de noviembre	11 plantas injertadas de un año sobre patrón clonal GF677	1 de diciembre a 31 de enero



Especies	Fecha límite de presentación de solicitudes	Material necesario para los ensayos	Fecha límite de entrega del material
Patrones del género <i>Prunus</i>	1 de diciembre	15 plántones autoenraizados	Del 10 de enero a 10 de febrero
Olivo	1 de enero	8 plantas autoenraizadas de un año	Del 1 de febrero a 10 de marzo
Cítricos (todas las especies)	15 de abril	Cuatro varetas de 6 a 10 mm de diámetro de un año de edad con al menos 20 yemas útiles	15 de mayo al 30 de junio
Vid	1 de diciembre	– Patrones: 15 barbados – Variedades viníferas o de mesa: 15 plantas injertadas sobre patrón 110 RICHTER	Del 10 de enero a 10 de febrero
Nogal	15 de enero	5 varetas de 40 cm de madera del año, bien lignificadas, tomadas de los dos primeros tercios de la rama del año, o 8 plantas injertadas de un año sobre patrón híbrido MJ 209 × RA	Del 15 de febrero al 16 de marzo
Avellano	1 de diciembre	8 plantas autoenraizadas de un año	Del 1 al 31 de enero
Higuera	1 de marzo	7 plantas de un año enraizadas en macetas	Del 1 de abril al 15 de mayo
Caqui	9 de noviembre	9 plantas de un año injertadas sobre el patrón adecuado, que será para: – Variedades de caqui NO astringentes (PCNA) <i>Diospyros kaki</i> – Variedades de caqui astringentes (PCA, PVA, PVNA) <i>Diospyros iotas</i> .	Del 1 de diciembre al 31 de enero
Granado	15 de diciembre	9 plantas de un año obtenidas de esquejes enraizados o injertadas en la misma especie ( <i>Púnica granatum</i> )	Del 15 de enero al 28 de febrero

Cada una de las plantas entregadas deberá estar perfectamente identificada mediante una etiqueta identificadora que incluya los siguientes datos: Especie, Variedad, Patrón, nombre del solicitante y el número de referencia de la solicitud en la OCV o en la OEV.

Si el material vegetal incumple las condiciones de entrega descritas en la Directriz Técnica (TG) de su especie, éste se rechaza procediendo a la comunicación de la incidencia a la OEV, quien comunica al solicitante un plazo para la devolución del material vegetal, pasado el cual, el centro de examen procede a su destrucción.

Una vez aceptado el material vegetal para la realización del Examen DHE, se procede al diseño del ensayo agronómico del examen, el cual tiene también sus peculiaridades como consecuencia de la característica leñosa de las especies. En la mayoría de especies resulta imposible plantar las variedades más similares junto a la variedad candidata. Las variedades similares de una variedad candidata se determinan al comparar la información facilitada por el solicitante en el cuestionario técnico de la variedad candidata con la información que el centro de examen dispone de su colección de referencia. La plantación de variedades candidatas y sus similares supondría disponer de plántones de las variedades similares de la misma edad que las variedades candidatas. Ello es imposible ya que el período desde que se realiza la solicitud hasta la llegada del material vegetal de la variedad candidata es normalmente de 2 a 3 meses, con lo que no se dispone de tiempo material para la preparación de una planta similar. Para ello se tendría que retrasar el envío de material vegetal de la variedad candidata al menos un año desde el envío de la solicitud para poder producir planta de las variedades candidatas de un año de edad. Todo ello supondría un retraso considerable en el período de examen y un encarecimiento excesivo de su coste. Además, en alguna especie como el melocotonero, sería impracticable, por el elevado número de variedades candidatas que solicitan su protección cada año. Por ello, la solución más adoptada a este inconveniente es realizar la toma de datos de las variedades similares presentes en la colección de referencia durante los mismos dos años productivos que se toman datos de la variedad candidata durante el examen DHE y anotar las diferencias más claras y evidentes.

El número de árboles que se plantan por variedad candidata en la Parcela de Examen suele ser de 5 en la mayoría de las especies. Parte de la planta suministrada se utiliza para la incorporación de la obtención a la colección de referencia y otra parte se conserva para la reposición de posibles fallos. Las parcelas de examen deben estar en las mejores condiciones posibles para su producción. El marco de plantación, el régimen de riego, de fertilización y demás prácticas agronómicas de producción se deben ajustar lo más posible a las prácticas de las plantaciones comerciales, de manera que es conveniente tecnificar la plantación de examen en el mismo grado que el usual en cualquier empresa agrícola.

Durante los dos ciclos productivos en los que se realiza el examen, se van tomando los datos descriptivos de las variedades candidatas y variedades similares que aparecen en las directrices técnicas. Los datos correspondientes al vigor, arquitectura y densidad floral, en el caso de las especies caducifolias, se realizan en invierno, antes de la poda, y cuando se han caído completamente las hojas, momento en el cual se aprecia mejor el porte de ramificación de los árboles, el crecimiento vegetativo producido durante el ciclo, y cuando es posible distinguir las yemas vegetativas respecto de las florales. Es el momento en el que se pueden recoger muestras de ramos mixtos y determinar las mediciones cualitativas y cuantitativas en laboratorio, como por ejemplo, coloraciones de las ramas, cantidad de

ramos anticipados, distancias de entre nudos, grosores de los ramos, densidad de yemas florales... En especies perennes, el porte y el vigor también se determinan en invierno y la densidad de floración se realiza poco antes de producirse la floración. En la floración se determina la fecha de plena floración, la evolución de la misma, el color predominante de las corolas, y los parámetros morfológicos de la flor, como cantidad y tamaños de pétalos, longitudes de pistilos, cantidad de estambres, etc., y en el caso de especies caducas se determina el espaciado entre la plena floración y la brotación de las yemas vegetativas. La fecha de plena floración suele ser un carácter de agrupamiento dentro de las distintas especies y sirve para descartar la similitud entre muchas variedades.

Una vez se encuentran las hojas completamente desarrolladas se caracterizan morfológicamente las hojas. Muchas variedades difieren en la relación longitud/ancho de las mismas, así como la longitud y coloración de los pedúnculos de las hojas.

Al igual que ocurre con la fecha de floración, la fecha de maduración de fruto es una característica de agrupamiento dentro de la variedad y sirve para descartar la similitud de las variedades candidatas con las variedades de distinto grupo de maduración. Una vez la variedad alcanza la madurez de consumo, en laboratorio se determinan los caracteres morfológicos del fruto y se determinan los aspectos físico-químicos de la calidad del fruto que se indican en las directrices técnicas de cada especie, como la firmeza de la pulpa, el contenido en sólidos solubles (principalmente azúcares), la acidez del zumo, etc. Una excepción es el caso del almendro, en el que el fruto se caracteriza dos veces, una en verde, al alcanzar su tamaño definitivo y, la otra con el fruto maduro, con la apertura de su mesocarpo. La caracterización del fruto suele aportar una gran información para la distinción de las variedades.

A parte de la descripción obligada por la directriz de examen pertinente, los centros de examen documentan con otra información la descripción de las variedades, con toma de fotografías en laboratorio de las distintas partes morfológicas del árbol (flores, hojas, ramos, fotografías del fruto desde sus distintos de vista, aspecto general de los frutos de la variedad, aspecto general del árbol con frutos, árbol sin hojas...) así como realizar una caracterización molecular básica, normalmente con microsatélites o "Simple Sequence Repeats" (SSRs).

Al concluir el segundo año de toma de datos, se realiza el análisis estadístico de los datos recolectados de los diferentes caracteres cuantitativos (QN) y se determina su nota. También se evalúa la consistencia de las notas obtenidas para cada característica y la descripción técnica obtenida de la variedad candidata se compara con las variedades que previamente se habían seleccionado como más similares a la candidata. En ese momento se determina si hay que realizar el examen un tercer ciclo para despejar alguna duda sobre la nota de alguna característica o para confirmar la distinción con alguna variedad muy similar.

Aclaradas las posibles dudas, el centro de examen redacta el Informe Final sobre el Examen DHE de la variedad candidata, que puede ser favorable o desfavorable. Un informe final es desfavorable cuando la variedad candidata no cumple con alguna de las condiciones de obtención vegetal, la "distinción", la "homogeneidad" y la "estabilidad". Un informe final favorable incluye tres documentos.

El primer documento es el informe DHE, en el que se indica que la variedad candidata tras la realización del ensayo DHE se ha comprobado que es distinta, homogénea y estable. La distinción de la variedad se obtiene al comprobar las diferencias existentes con las variedades notoriamente conocidas que componen la colección de referencia disponible. La homogeneidad se observa con la uniformidad de las características descritas entre los árboles plantados en el ensayo DHE. En cultivos leñosos es muy difícil obtener plantas fuera de tipo, ya que su propagación es vegetativa. Si alguna vez ocurre, es por la inclusión errónea por parte del solicitante, de algún plantón perteneciente a otra variedad o selección. Una variedad candidata no superaría la condición de homogeneidad si apareciese una sola planta fuera de tipo en el caso de la plantación de cinco árboles en la parcela de examen o dos en el caso de más de cinco árboles plantados. Finalmente la estabilidad, al ser cultivos plurianuales, se determina al comprobar que las características descritas no varían de un ciclo productivo a otro, exceptuando variación de la expresión causadas por las condiciones medioambientales.

El segundo documento es la descripción técnica oficial de la variedad candidata obtenida tras el examen DHE, en la que se recoge la nota obtenida en cada característica indicada en la directriz técnica de la especie.

El último documento del informe final del examen técnico es la comparación con variedades similares, en la que se indica las características en que se diferencia la variedad candidata de las variedades similares seleccionadas al recibir la solicitud. Un aspecto importante es que el valor de las notas de las características de la variedad candidata debe diferenciarse al menos en dos grados de la variedad similar.

Una vez que el Informe Final DHE favorable llega a la Oficina Española de Variedades Vegetales (OEVV), se comprueba la condición jurídica de "novedad" y que la variedad candidata está al corriente de pago de las tasas del examen. Son nuevas las variedades que no han sido puestas en el comercio o, habiéndolo sido, no haya transcurrido en el caso de especies frutales 1 año en España y 6 años fuera de España.

Una vez se cumplen todos los requisitos, el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente concede el Título de Obtención Vegetal, procede a su publicación en el Boletín Oficial del Estado y la variedad queda inscrita en el Registro Nacional de Variedades Protegidas.

### 6.3.3. Examen técnico de variedades de cultivos extensivos

Una cuestión fundamental en los ensayos de identificación es una buena elección de la parcela en la que se van a ubicar estos ensayos, ya que si la parcela no

es la adecuada, aunque se haga cuidadosamente la toma y el proceso de datos, sería imposible obtener unos resultados fiables. Lo más importante es que la parcela sea homogénea, además de tener las características idóneas para el cultivo. El altramuz se desarrolla bien sólo en terrenos ácidos por lo cual para el examen técnico de esta especie el terreno de la parcela debe ser ácido. Si se siembra un ensayo de girasol en un terreno contaminado de jopo y hay variedades sensibles a jopo, será imposible comprobar las diferencias morfológicas que existan entre las variedades.

Otro de los aspectos más importantes a la hora de elegir las parcelas es que ésta cuente con posibilidad de riego en cualquier momento, tanto por aspersión como a pie. Si después de sembrar, el terreno no tiene un tempero adecuado y no es posible regar, la nascencia no será uniforme y esto condicionará toda la toma de datos posterior ya que habrá plantas más precoces, más tardías, más altas, más bajas etc., por lo que habrá una gran heterogeneidad en el ensayo aunque el terreno sea uniforme.

El marco adecuado es un tema muy debatido, habiendo diversos puntos de vista. Hay quien piensa que el marco debe ser el mismo que en una siembra normal; otros por el contrario piensan que las plantas deben estar totalmente aisladas; lo más lógico es mantener un equilibrio, aunque esto depende de la especie de que se trate. En el caso del algodón a un marco muy amplio se distorsionan los datos, lo mismo ocurre en el girasol. El problema es menor en el maíz y cereales de invierno. El número de plantas a estudiar depende de la especie de que se trate aunque, un número razonable de plantas estaría entre las 50 y 100.

Los caracteres que se utilizan para la identificación varietal en cada especie son los que se consideran importantes para distinguir una variedad de otra. Estos caracteres pueden ser morfológicos, fisiológicos, bioquímicos o de otra naturaleza. Pueden también incluirse caracteres basados en la reacción a organismos vivos, (por ejemplo, los caracteres de resistencia a enfermedades), a los productos químicos (por ejemplo los caracteres de resistencia a los herbicidas), etc. Todos estos caracteres deberán reconocerse y describirse con precisión. La mayor parte de los países utilizan los caracteres que figuran en las Directrices de Examen de la UPOV para cada especie y se añaden otros caracteres que consideran de utilidad.

Los caracteres pueden tomarse por:

**Observación visual (V)**, una observación basada en la observación visual del experto, aunque también se incluyen en este grupo las observaciones sensoriales, como pueden ser el olor, el sabor y el tacto.

**Medición (M)**, una observación objetiva que se realiza frente a una escala lineal calibrada, por ejemplo, utilizando una regla, una báscula, un colorímetro, fechas, recuentos, etc.

Los caracteres observados por separado pueden combinarse posteriormente, por ejemplo la relación longitud  $\times$  anchura o la longitud/anchura. Los caracteres que se utilizan no son única y exclusivamente aquellos que se observan en las parcelas de campo, o en muestras tomadas de éstas, para su posterior observación en gabinete. Se utilizan además determinadas técnicas en laboratorio (fitotrones, invernaderos, macetas, etc.) para la observación de ciertos caracteres y sus diferentes niveles de expresión. Estas técnicas, al realizarse en condiciones controladas, permiten efectuar determinaciones cuantas veces se considere necesario, pudiéndose comparar los resultados de diferentes determinaciones. Por ello siempre se estudian junto a las variedades cuyos caracteres hay que observar, variedades de referencia, lo cual sirve también para poder detectar resultados anómalos debido a causas fortuitas y una vez solucionados los problemas repetir los análisis en las condiciones fijadas.

Como ejemplos de caracteres que se observan utilizando estas técnicas se relacionan entre otros los siguientes:

- Determinación de la intensidad de la pigmentación del coleóptilo en fitotrón o invernadero, en condiciones controladas de luz y temperatura en soja, sorgo, maíz, girasol, etc.
- Determinación de la intensidad de la coloración que adquieren los granos de sorgo al tratarlos con fenol.
- Test de mildiu en girasol.
- Contenido en ácido oleico en girasol.
- Índice de flotabilidad en maíz.
- Riqueza grasa en girasol, colza, etc.
- Análisis de fibra en algodón.
- Comprobación de las modificaciones genéticas.
- Electroforesis para comprobación de la identidad o pureza de una muestra.

El gran número de variedades a comparar entre si hace muy difícil esta labor. Para facilitar el trabajo, las variedades se agrupan según algunas de sus características; de esta forma cada variedad se siembra al lado de las de su grupo, que en definitiva, son a las que se parece. Igualmente se comparan sus características con las características de las variedades de su grupo.

Tanto los caracteres cualitativos como los cuantitativos pueden estar sujetos, en mayor o menor medida, a la influencia del medio ambiente que posiblemente modifica la expresión de diferencias genéricamente controladas. Para agrupar las variedades, son preferible los caracteres menos influidos por el medio ambiente. Si en determinados casos la expresión de un carácter ha sufrido influencias mayores de lo normal debido a factores ambientales, no deberá utilizarse este carácter. Los caracteres que no son influidos por el medio ambiente en ninguna o casi ninguna medida y además pueden ser claramente definidos, son los que se utilizan para agrupar variedades antes de la siembra.

Como ejemplo en maíz se utilizan el ciclo de floración, el color de las sedas, la altura de la planta, el tipo de grano y el color del zuro.

Mediante estos caracteres las nuevas variedades se integran en los diferentes grupos existentes, donde están también otras variedades solicitadas con anterioridad y las variedades de la colección de referencia. Las siembras se van a realizar siempre respetando estos grupos, por lo que van a sembrarse juntas las variedades que más se parecen entre si, sean o no de la colección de referencia, se van a estudiar juntas y se van a comparar entre ellas.

Las variedades incluidas en la colección de referencia no deberían limitarse a las existentes a nivel nacional, una solicitud de protección o de inscripción en un registro oficial en cualquier parte del mundo confiere a la variedad la calidad de notoriamente conocida. Es poco probable que las variedades de muchas especies seleccionadas en entorno considerablemente diferente de aquel en el que se ha desarrollado la variedad candidata sean similares a la variedad objeto de examen, lo que puede servir para restringir el tamaño de la colección de referencia con arreglo a la cual deberán examinarse las variedades candidatas.

Para la organización de las siembras hay que conocer qué material va a haber en el ensayo de identificación y qué características tiene; para ello es fundamental que la información de los obtentores sea correcta y clara. Se incluirán al menos las variedades de la colección de referencia con características similares a las que estén en estudio.

**En el primer año** de ensayo se establecen los grupos de siembra dentro de cada tipo de material. En girasol hay los siguientes tipos: restauradores, hembras, HS fundacionales, HS, H3L y población. En maíz: líneas puras, HS fundacionales, HS, H3L, y HD, población. Dentro de cada tipo se van agrupando las variedades según la descripción presentada por el obtentor. Así por ejemplo en maíz se ordenarían las variedades por ciclos 200, 300, 400, 500, 600,700 y 800.

Dentro de cada ciclo se sembrarían de un lado las variedades de zuro blanco y de otro las de zuro rojo; dentro de cada grupo se ordenarán por precocidad, después las de grano liso y las de grano dentado; las que tengan las sedas coloreadas y las sin coloración; etc. De esta manera si la descripción del obtentor no es correcta la variedad estará en un grupo que no le corresponde, con el consiguiente problema a la hora de relacionar esta variedad con el grupo correspondiente. Una vez establecidos los grupos de siembra se eligen las variedades testigo para cada uno de ellos.

**En el segundo año** de estudio se planifica la siembra según las observaciones realizadas el año anterior, pudiendo efectuarse la siembra de una variedad junto a otra perteneciente a la colección de referencia o en estudio, si se tienen dudas de su novedad con respecto a ésta. Para los híbridos podría efectuarse un control de identidad durante el segundo año, entre las semillas depositadas el primer año por

el obtentor y las semillas resultantes del cruzamiento realizado el primer año, conforme a la fórmula anunciada.

Tanto el primer como el segundo año se sembrarán juntas las muestras de identificación y de V.A. para comprobar que son iguales. En los parentales se sembrarán el material enviado al inicio del ciclo de estudio junto al obtenido por autofecundación durante el primer año, al objeto de comprobar la estabilidad del parental. Se compararán también las líneas mantenedoras de esterilidad con las líneas androestériles.

Una variedad se considera distinta si en el momento en que se pide su inclusión en el Registro se diferencia claramente por uno o varios caracteres morfológicos o fisiológicos importantes de todas las demás variedades incluidas o en proceso de inclusión en el Registro correspondiente. Dos variedades se consideran distintas para un determinado carácter cualitativo, cuando existe una separación entre los niveles de expresión de dichas variedades, al menos igual a la anchura de clase definida para dicho carácter. Dos variedades se consideran distintas para un determinado carácter cuantitativo, cuando la diferencia entre las medias de dichas variedades para ese carácter, sea superior a la mínima diferencia significativa al 5%, con el mismo sentido en los dos años de estudio.

En el caso de un híbrido comercial, su novedad estriba en la novedad de los parentales que lo forman, o en la originalidad de la fórmula que los asocia. A falta de poder establecer la novedad de un híbrido sobre la base de esta regla general, se realizará un estudio complementario de la distinción en los híbridos comerciales a fin de verificar las diferencias entre variedades parecidas.

Diferencias menores a la anchura de clase en varios caracteres importantes, podrían ser consideradas suficientes para la separación de variedades. A cada carácter se le da una anchura de clase mayor o menor dependiendo de la importancia del carácter y después, si no es suficiente para separar dos variedades, se ve si existen diferencias en varios caracteres menores a la anchura de clase establecida.

Una variedad o una línea se considera homogénea cuando las plantas que la componen poseen las mismas características morfológicas o fisiológicas. En el caso de líneas puras el estudio de homogeneidad puede incluir la descendencia obtenida por autofecundación de las líneas.

En relación con el estudio de identificación se establece niveles máximos de tolerancia de plantas fuera de tipo, dependiendo del material de que se trate. Normalmente se separan las especies autógamas y las alógamas, aunque cada especie tiene unas peculiaridades propias. Por ejemplo, tan autógama es el trigo como el algodón, sin embargo en el algodón se empieza a considerar una variedad ya estable a partir solamente de la F4 mientras que en el trigo se hace mucho más tarde, con lo que la homogeneidad que presenta el material es menor que en trigo. Por



otra parte, dentro de la misma especie, el tratamiento es distinto si es una población, o un híbrido comercial, o una línea pura.

Para la aplicación de los baremos establecidos en los niveles de tolerancia, se tendrá en cuenta las tablas de distribución binomial para cada uno de estos porcentajes. Para comprobar la homogeneidad se puede aprovechar el ensayo de distinción, marcándose las plantas fuera de tipo, o hacer un ensayo especial para comprobar la homogeneidad.

Una variedad se considera estable, si después de sucesivas multiplicaciones conserva la misma definición en sus caracteres esenciales. Si no hay duda sobre la base de la homogeneidad se supone que es estable.

Debido a la gran cantidad de datos que hay que manejar, en girasol y maíz en el ensayo puede haber 500 o más variedades, es imprescindible el uso de ordenadores con programas específicos que ayuden al manejo de la gran cantidad de datos tomados en campo. Estos programas en definitiva lo que hacen es darnos las variedades que morfológicamente no se separan entre sí y por tanto, después hay que compararlas directamente en campo, una al lado de la otra, para ver si las posibles diferencias que tengan son suficientes o no para considerarlas diferentes.

Con la información obtenida de todos estos ensayos, después de al menos dos años de estudio, se elaboran los informes que son sometidos a discusión en Grupos de Trabajos y Comisiones Nacionales de Estimación que deciden las variedades que van a ser incluidas en las listas correspondientes y de esta manera poder ser comercializadas.

#### **6.4. La identificación molecular**

La información sobre identificación varietal, diversidad genética y relaciones entre genotipos es de gran importancia para la conservación eficiente, para los programas de mejora y para la utilización de los recursos genéticos. La caracterización e identificación tradicional de variedades es el primer paso en la mejora de los cultivos y en los programas de conservación y se ha basado en el empleo de caracteres morfológicos. Estos marcadores agronómicos establecen las bases para identificar y diferenciar variedades, sin embargo presentan algunas limitaciones: son demasiado lentos para ser aplicados en un posible control de identidad in vivo o para la protección de los derechos de obtentor. Además son métodos complejos, limitados, subjetivos, influenciados por el ambiente e involucran estados de desarrollo específicos del cultivo.

Por ello, gracias a los avances en la biología molecular se han desarrollado métodos de identificación y caracterización de material vegetal basado en el uso de marcadores moleculares que superan, en la gran mayoría de los casos, las limitaciones de los marcadores morfológicos. Estos marcadores moleculares son fenotípicamente neutros y presentan mayor polimorfismo que los morfológicos.

Además pueden evaluarse desde los primeros estados de desarrollo de las plantas, son aplicables a cualquier tipo de material vegetal, son independientes de la época del año en que se realiza el análisis, permiten la identificación correcta de la variedad sin necesidad de muchos caracteres y están libres de efectos epistáticos, permitiendo establecer en pocos días un perfil único para cada variedad (Tanksley, 1983; Rallo et al., 2002).

De entre todos los marcadores de ADN, los microsatélites (SSR) son actualmente los marcadores más populares en los estudios de identificación de material vegetal (Scott, 2001). Su alta tasa de mutación y naturaleza codominante permiten la estimación de la diversidad genética dentro y entre especies, así como la mezcla genética entre ellas incluso si están estrechamente emparentadas. Otro tipo de marcadores de nueva generación y que posiblemente sean la alternativa a los microsatélites para estudios de diversidad genética, son los 'Polimorfismos de Nucleótido Simple (SNP)'. Estos se basan en la identificación de la sustitución de un nucleótido por otro, representando solamente dos alelos simples. Los SNP parecen ser marcadores atractivos para aplicarlos en el futuro a estudios de diversidad genética ya que se pueden usar fácilmente en la evaluación de la variación funcional o neutra. Sin embargo, la fase preliminar del descubrimiento o selección de los SNP a partir de bases de datos es crítica. Al ser marcadores bialélicos, los SNP poseen un contenido de información bastante bajo, y hay que usar muchos para llegar al nivel de información obtenido a partir de un panel estándar de 30 loci de microsatélites. No obstante, las tecnologías moleculares están en constante evolución, aumentando la automatización y disminuyendo el costo del tipaje de SNP. Probablemente, en el futuro próximo, ello permitirá el análisis en paralelo de un gran número de marcadores a un costo inferior. Con esta perspectiva, están en marcha proyectos a gran escala en varias especies de plantas para identificar millones de SNP y validar varios miles de ellos.

El Grupo de Trabajo de la UPOV especializado en Técnicas Bioquímicas y Moleculares (BMT) ha revisado recientemente tres modelos de estudio que sirvan para introducir técnicas moleculares en el sistema de la UPOV. Las principales aplicaciones de interés son el uso de marcadores asociados a genes específicos que permitan identificar una característica fenotípica (opción 1) y gestionar colecciones de referencia (opción 2). Una tercera propuesta (opción 3), en la que aún siguen debatiendo y realizando ensayos experimentales, es la posibilidad de usar un número limitado de marcadores moleculares que sean capaces de encontrar diferencias entre variedades. Sin embargo, surge la incertidumbre de saber qué sucedería si estos marcadores encuentran diferencias a un nivel genético que no se reflejaría en su fenotipo.

Recientemente, el grupo de estudio y control de variedades y semillas francés (GEVES), así como el Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales británico (DEFRA) han usado marcadores moleculares para el examen de DHE. Además, ambos organismos están siendo muy activos en cuanto a la inves-

tigación de marcadores moleculares, financiando varios proyectos para confirmar el uso de marcadores en las tres opciones previamente mencionadas. DEFRA financió un proyecto en trigo usando microsatélites para ser usados en un examen de DHE, siendo los resultados muy satisfactorios por dicho grupo. Por otro lado, los estudios realizados en maíz, melocotón, colza o rosal han sido propuestos como posibles modelos de aplicación en lo que respecta a la utilización de marcadores moleculares para exámenes de DHE. En todos ellos se concluye la eficacia de los marcadores de ADN para su utilización en estos estudios. Así mismo la variabilidad observada por medio de los marcadores en el seno de las variedades es mayor que la variabilidad observada con los caracteres tradicionales. Además, según se recoge en los anexos del documento UPOV/INF/18/1, los marcadores moleculares podrán utilizarse para establecer un umbral de "distinción *plus*", basado en la distancia genética, para la gestión de colecciones de referencia y no serán utilizados para evaluar la distinción mediante un enfoque de carácter por carácter.

El desarrollo de estas técnicas está evolucionando muy rápidamente, pero por el momento no se ha establecido su utilización en los descriptores para la identificación varietal, aunque sí se han aceptado en casos de litigios sobre apropiación de materiales vegetales. Ante esta situación no es posible prescindir de las observaciones de carácter morfológico y fisiológico que se realizan en los ensayos en campo o invernadero durante el período vegetativo, y del estudio de las partes de las plantas recolectadas que se efectúan en gabinete.

## 6.5. Referencias

- Tanksley S. 1983. Molecular markers in plant breeding. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1: 3-8.
- Rallo P, Belaj A, de la Rosa R, Trujillo I. 2002. Marcadores moleculares (en línea). Córdoba, España. [http://www.extremadura21.com/caudal/hemeroteca/mayo-junio\\_2000/almazara/almazara1.htm](http://www.extremadura21.com/caudal/hemeroteca/mayo-junio_2000/almazara/almazara1.htm)
- Scott KD. 2001. Microsatellites derived from ESTs and their comparison with those derived by other methods. En: Henry RJ (ed.) *Plant Genotyping: the DNA Fingerprinting of Plants*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 225-237.
- UPOV/INF/18/1. 2011. Unión Internacional para la protección de las obtenciones vegetales: posible utilización de marcadores moleculares en el examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad.