

Laboratorio de Genética Molecular

Roberto L. Figueredo (*)

Puesto en funcionamiento en el año 2001, el Laboratorio de Genética Molecular –que integra el Complejo de Laboratorios de la Bolsa de Comercio de Rosario– fue concebido con la idea de brindar servicios al sector exportador y a semilleros en lo relativo al análisis de Organismos Genéticamente Modificados (OGM).

Sin embargo, debido a la constante demanda de servicios por parte del sector agroexportador, y con el propósito de satisfacer la misma, se comenzó con el desarrollo de nuevos servicios analíticos.

De esta manera, se pasó de un laboratorio dedicado al desarrollo con muy pocos análisis como servicio a terceros, a un laboratorio comprometido en cantidad de muestras de consultas para todo el sector agroindustrial.

DETALLE DE LOS SERVICIOS ANALÍTICOS BRINDADOS

1) Determinación cualitativa / cuantitativa de OGM por PCR convencional y en tiempo real:

Se realiza la detección / cuantificación de OGM en cereales,

oleaginosas, subproductos derivados y alimentos. Además, se puede determinar el evento transgénico presente. Para soja existe un solo evento y para maíz siete (los eventos 40–3–2 de soja RR, BT11, 176, TC1507, MON 810 de maíz BT, T25 de maíz LL y GA21 y NK603 del maíz RR). El método de detección está basado en una reacción cuya sigla en inglés es PCR (Polimerase Chain Reaction). Es una técnica mediante la cual un pequeño fragmento de ácido desoxirribonucleico (ADN) se amplifica para obtener múltiples copias con el fin de aumentar la concentración. De esta forma, se pueden detectar, identificar y cuantificar los eventos transgénicos fácilmente (ver figura 1). Este tipo de ensayos es útil para determinar y cuantificar la presencia adventicia en semillas y contaminaciones de productos agrícolas con materiales transgénicos.

2) Identificación de variedades de trigo y cebada mediante electroforesis de proteínas de reserva:

El laboratorio realiza identificación de variedades de cebada y trigo mediante técnicas de “fingerprinting”.

Para el análisis se emplean las metodologías de ISTA (In-

(*) Roberto L. Figueredo - Gerente Complejo de Laboratorios de la Bolsa de Comercio de Rosario

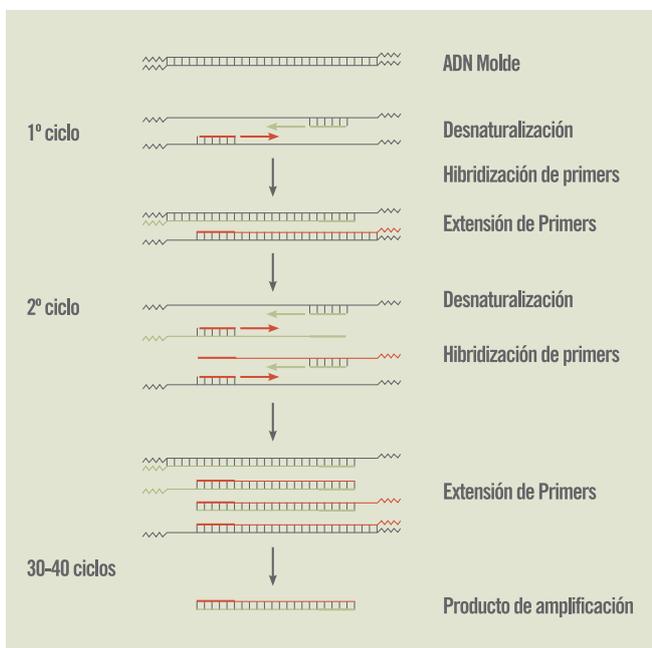


Figura 1: Diagrama donde se ejemplifica el proceso de amplificación de una secuencia específica del ADN producida por la técnica de PCR.

ternational Seed Testing Association) para identificación de variedades a través de proteínas de reserva de la semilla. Mediante estas metodologías, se puede determinar la pureza e identidad de una muestra de cebada y trigo. Esto

Este tipo de ensayos es útil para determinar y cuantificar la presencia adventicia en semillas y contaminaciones de productos agrícolas con materiales transgénicos.

resulta importante para la utilización industrial de estos cereales, así como también para garantizar la identidad y pureza de semillas para la siembra.

La técnica consiste en la extracción de proteínas de reserva de las semillas de trigo y cebada, y la posterior separación de éstas mediante la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida (ver figura 2). Posteriormente, se tiñen los geles obteniendo un patrón como el que se observa en la figura 3. De esta forma, se puede determinar la identidad de la muestra comparada con uno o más patrones específicos y la pureza en caso de que lo solicite el cliente.

3) Identificación de variedades de soja mediante marcadores moleculares:

Para la soja, en cambio, se utiliza la técnica de marcadores moleculares, específicamente microsatélites, para la iden-

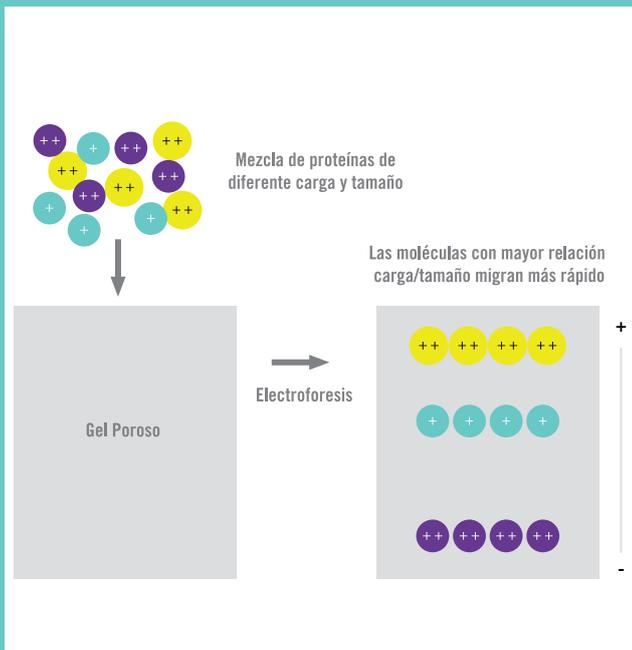


Figura 2: Electroforesis de proteínas: Las proteínas cargadas positivamente se separan de acuerdo a su carga y tamaño formando bandas que al ser teñidas con un colorante apropiado forman un patrón de bandas característico que distingue a la variedad.

Para la soja, en cambio, se utiliza la técnica de marcadores moleculares

tificación de variedades. Esta técnica es muy poderosa, ya que se basa en la identificación de secuencias presentes en el ADN que permiten, con una alta especificidad, saber de que variedad se trata.

4) Ensayos de expresión de proteína Cry1F del evento Herculex I® en etapas de mejoramiento y líneas precomerciales dentro del convenio DOW-BCR:

Este ensayo se utiliza para determinar los niveles correctos de expresión de la proteína insecticida Cry1F en el evento de maíz OGM Herculex I® durante la etapa de mejoramiento o introducción del evento en líneas élite.

Adicionalmente, dicho ensayo se emplea para determinar el valor de expresión de las líneas previas a la comercialización, de manera que tengan una protección suficiente contra el “gusano cogollero”.

5) Servicio de extracción de ADN:

Se brinda el servicio de extracción de ADN a partir de semillas u hojas de diferentes cultivos. Este servicio es utilizado principalmente por empresas multinacionales que no cuentan con laboratorios propios en el país. Las muestras de ADN, son enviadas a su casa matriz para realizar caracterizaciones posteriores.

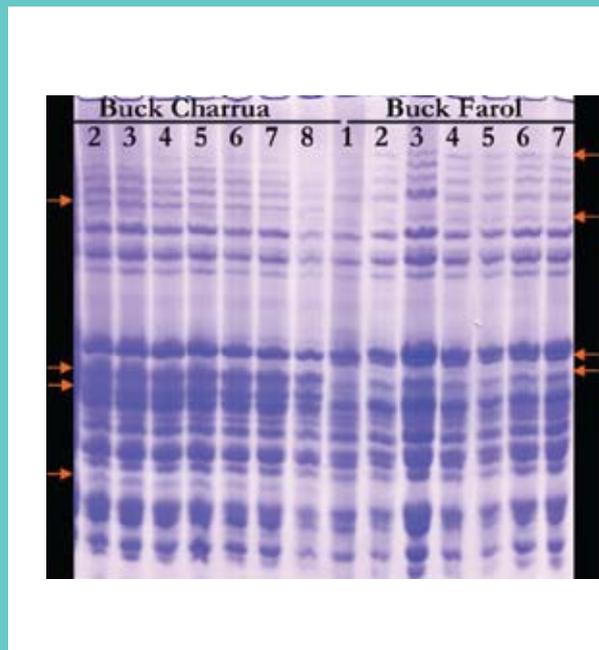


Figura 3: Gel teñido donde se observan los patrones de bandas de dos variedades de trigo diferentes. Las flechas indican las bandas que permiten diferenciar a las variedades entre si.

Este servicio se ha multiplicado mucho en los últimos meses, formando parte de un servicio de control de calidad de estas empresas multinacionales.

DETALLES DEL PROYECTO DE ACREDITACIÓN DEL LABORATORIO POR DOW AGROSCIENCES

El proyecto de acreditación por parte de Dow AgroSciences USA del Laboratorio de Genética Molecular de la Bolsa de Comercio de Rosario se realizó en febrero de 2007. El mismo tiene como objetivo llevar a cabo ensayos genéticos relacionados con el evento de maíz transgénico DAS Herculex I (TC1507). Este evento confiere al maíz resistencia contra el “gusano cogollero” -*Spodoptera frugiperda*- y otras plagas.

Para cumplimentar los requisitos necesarios para la acreditación, en primera instancia se firmó con Dow un Acuerdo de Ensayo (Testing Agreement). Posteriormente, se realizó la puesta a punto de las metodologías suministradas por Dow en nuestro laboratorio. Finalmente, se llevaron a cabo los ensayos específicos a partir de muestras incógnita, que permitieron determinar el desempeño de nuestro laboratorio en los ensayos específicos.

El acuerdo con Dow AgroSciences contempla la acreditación como laboratorio de referencia en Argentina para los ensayos correspondientes al evento Herculex I de maíz BT. Esto, en una primera etapa, establece la acreditación para



... sería el único laboratorio de terceros autorizado para llevar a cabo dichos ensayos en el país.

aumento notorio (alrededor del 700%) en comparación con el anterior.

Este incremento se debe principalmente al desarrollo de nuevas técnicas analíticas, como ser: ensayos de identificación de variedades en trigo y cebada (ejercicio 2004/05); soja (ejercicio 2007/08) y ensayos derivados del convenio firmado con la empresa Dow AgroSciences celebrado a mediados de 2007.

Otro aporte importante para explicar este aumento operativo, lo constituye la difusión que han tenido los servicios en los últimos años.

ensayos de ELISA, los cuales permiten determinar el nivel de expresión de la proteína Cry1F en maíz.

Está previsto dentro del Acuerdo de Ensayo realizar acreditaciones adicionales para brindar otros servicios de ensayos a futuro. Esto último está vinculado a la acreditación inicial y permitirá el ingreso de muestras para ensayos adicionales por parte de los licenciatarios del evento en Argentina.

Cabe señalar que, de contar con la acreditación correspondiente por parte de Dow, el Complejo de Laboratorios de la Institución sería el único laboratorio de terceros autorizado para llevar a cabo dichos ensayos en el país.

EVOLUCIÓN DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS POR PERÍODOS

En la gráfica siguiente se observa el ingreso de muestras al laboratorio por ejercicio (los ejercicios comerciales se inician el 1° de agosto y finalizan el 31 de julio del año siguiente), verificándose en el último 2007/08, un

NUEVOS SERVICIOS EN DESARROLLO

Se encuentra en etapa de finalización el Laboratorio de Microbiología, para prestar servicios a terceros relacionados con ensayos microbiológicos. En primer lugar, se pondrá en funcionamiento el laboratorio con ensayos de determinación de Salmonella, para posteriormente ampliarlo a otros microorganismos.

Este año se ha avanzado en la firma de un convenio entre la Bolsa de Comercio de Rosario y Monsanto; que tiene como objetivo la prestación de servicios analíticos de pureza de eventos NK603 y Mon810 a semilleros licenciatarios en Argentina.

Finalmente, se han desarrollado metodologías de marcadores moleculares en soja para ser utilizados en la asistencia al mejoramiento y la determinación de cruzamientos efectivos en la etapa de mejoramiento de líneas de soja ●

