

Short Communication

## Caracterización genética de alimentos de chañar mediante huella genética para argumentar su postulación a Denominación de Origen

[Genetic characterization of chañar foods by means of genetic footprinting to argue their application for Denomination of Origin]

Roberto Contreras Díaz\*, Mariana Arias-Aburto, Vincenzo Porcile Saavedra y Fernanda Aguayo Cruces

Centro Regional de Investigación y Desarrollo Sustentable de Atacama (CRIDESAT),  
Universidad de Atacama, Copiapó, Chile

\*Correspondence to: [roberto.contreras@uda.cl](mailto:roberto.contreras@uda.cl)

**Abstract:** The seal of origin can contribute to give greater added value to agricultural products in the market, giving differentiation, positioning, reliability and status. According to INAPI, in order to obtain a seal of origin, the association of the product with its geographical area must be demonstrated. In the following work we use genetic tools to find the association of foods based on chañar (*Geoffroea decorticans*) with its geographical area. In this way, we intend to provide the first technical background to justify the registration of Denomination of Origin (DO) of foods from chañar made with raw material from the Copiapó Valley. For this we develop a genetic characterization of chañar foods with microsatellite molecular markers (SSR). The results showed that there are exclusive alleles in chañar flours from different localities in northern Chile, being able to discriminate between chañar flours from different locations.

**Keywords:** Genetic characterization of foods; *Geoffroea decorticans*; Genetic footprint; Denomination of Origin; Chañar.

**Resumen:** El sello de origen puede contribuir a dar mayor valor agregado a productos agropecuarios en el mercado, dando diferenciación, posicionamiento, confiabilidad y estatus. Según el INAPI, para obtener un sello de origen se debe demostrar la asociación del producto con su zona geográfica. En el siguiente trabajo utilizamos herramientas genéticas para buscar la asociación de alimentos a base de chañar (*Geoffroea decorticans*) con su zona geográfica. De esta manera, pretendemos entregar los primeros antecedentes técnicos para justificar el registro de Denominación de Origen (DO) de alimentos de chañar elaborados con materia prima del Valle de Copiapó. Para ello desarrollamos una caracterización genética de alimentos de chañar con marcadores moleculares microsatélites (SSR). Los resultados mostraron que existen alelos exclusivos en harinas de chañar procedentes de distintas localidades del norte de Chile, logrando discriminar entre harinas de chañar de distintas localidades.

**Palabras clave:** Caracterización genética de alimentos; *Geoffroea decorticans*; Huella genética; Denominación de Origen; Chañar.

Received: May 1, 2021

Accepted: May 20, 2021

Published online: May 30, 2021

**This article must be cited as:** Contreras Díaz R, Arias-Aburto M, Porcile Saavedra V, Aguayo Cruces F. 2021. Caracterización genética de alimentos de chañar mediante huella genética para argumentar su postulación a Denominación de Origen. *Med Plant Commun* 4 (1): 30 – 35.

## INTRODUCCIÓN

En Chile, existen productos elaborados que gozan de una reputación especial, derivada de cualidades específicas y vinculadas a tradiciones y costumbres locales (Romero *et al.*, 2015). En algunos territorios, las personas han construido una identidad local, un saber hacer que se ha traducido en productos típicos, asociados a sus recursos naturales, humanos y sistemas de producción. La identidad de un producto es un patrimonio que puede aportar mayor valor agregado y una mejor visualización en el mercado (Romero *et al.*, 2015).

En el Valle de Copiapó en la Región de Atacama, se ofrecen productos artesanales elaborados por microempresas familiares que tienen como base, materias primas de especies de plantas locales. Un ejemplo es el Chañar, *Geoffroea decorticans* (Gillies ex Hook. & Arn.), cuyos frutos se consumen crudos, como harina o mediante la preparación de un jarabe denominado "arrope" (Reynoso *et al.*, 2016). El chañar es un árbol nativo perteneciente a la familia Fabaceae y su distribución figura en regiones semiáridas (Desierto de Atacama) del norte de Chile, el Chaco paraguayo, el sur de Perú, Bolivia, el sur de Uruguay y el norte a centro sureste de Argentina (Squeo *et al.*, 2008). En Chile, esta especie leñosa habita en valles y oasis desde la región de Arica-Parinacota hasta Coquimbo (Squeo *et al.*, 2008). El chañar tiene múltiples usos y está bien adaptado a las condiciones desérticas. Tiene efectos medicinales, como sedante, antitusivo, expectorante, anticatarral, balsámico, emoliente, antiasmático, antidiarreico y contra infecciones respiratorias y urinarias (Hurrell & Ulibarri, 2011; Reynoso *et al.*, 2016; Costagama *et al.*, 2016).

El estado dispone de herramientas legales, como Sello de Origen, para apoyar el desarrollo y protección de productos que cumplan ciertos requisitos para su protección (INAPI, 2017). Las herramientas genéticas son útiles para identificar especies biológicas, materias primas y alimentos procesados, y la validación de la autenticidad de estos alimentos depende en gran parte de análisis proteicos y/o secuencias genéticas. Los métodos de base genética son más eficaces y se pueden aplicar a matrices de distintos alimentos (Contreras *et al.*, 2021). Además, el ADN brinda más información que las proteínas y se pueden encontrar en pequeñas trazas de material orgánico (Galimberti *et al.*, 2013). Sin embargo, actualmente hay pocos estudios detallados sobre trazabilidad genética de materia prima de alimentos a base de chañar. El objetivo de este trabajo es caracterizar genéticamente harinas de chañar de diversas localidades del norte de Chile usando marcadores moleculares SSR, con el fin de justificar la asociación del alimento con su localización geográfica, lo que permitiría apoyar técnicamente una solicitud de DO.

## METODOLOGÍA

### Material de estudio

Se colectaron 50 frutos de chañar en diferentes localidades del norte de Chile: Valle de Azapa (Región de Arica-Parinacota; 18°30'54.2"S 70°11'22.0"W), pueblo de Pachica (Región de Tarapacá; 19°51'48.8"S 69°24'38.5"W), San Pedro de Atacama (Región de Antofagasta; 22°57'15.2"S 68°13'48.1"W), Valle de Copiapó (Región de Atacama; 27°20'12.3"S 70°35'45.1"W). En total se colectaron 350 frutos de chañar procedentes de distintas regiones del norte de Chile. Para preparar harina de chañar se extrajo aprox. 5 mg de mesocarpio de cada fruto de chañar por localidad, moliéndose el material en un mortero hasta lograr un polvo fino. En el caso de tejido de hojas, se colectó 10 gr de hojas de árboles de chañar de distintas localidades.

### Extracción de ADN de hojas y harina de chañar

La extracción de ADN para harina y hoja de chañar se realizó con el método CTAB-Fenol-Columna descrito por Contreras *et al.* (2019). La calidad del ADN extraído de harina de chañar se verificó mediante un nanoespectrofotómetro COLIBRI microvolumen.

### Amplificación con marcador SSR

Se evaluaron 7 microsatélites (SSR) descritos por Naciri-Graven *et al.* (2005), en reacciones SSR-PCR con ADN de *Geoffroea decorticans* (chañar), siendo seleccionados finalmente cinco microsatélites por mostrar amplificación de PCR de acuerdo al tamaño esperado, estos cinco SSR son: Gsp.B264, Gsp.A021, Gsp.A149, Gsp.B284 y Gsp.A104. Todas las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen total de 20 µL, el cual contenía 10 µL de SapphireAmp PCR Master Mix 2X (Takara), 1 µL de primer forward (5 µM), 1 µL de primer reverse (5 µM) y 8 µL de ADN genómico total (1 ng/µL). La amplificación se realizó en un termociclador Swift MaxPro (ESCO) con las siguientes condiciones: una desnaturalización inicial a 94°C durante 4 minutos, seguida de 45 ciclos de 35 segundos a 94°C, 35 segundos a 50°C (según descrito por Naciri-Graven *et al.*, 2005), y 35 s a 72°C, con una extensión final a 72°C durante 4 min. Se realizaron reacciones SSR-PCR por duplicado, y fueron cargados en un secuenciador automático ABI3730XL con el fin

de obtener los tamaños de alelos de cada muestra (hoja y harina), usando además un marcador estándar interno de tamaño conocido, Genescan-400 Rox (Applied Biosystems). Los datos obtenidos del análisis de fragmento tanto de hoja y harina fueron observados en el software Peak Scanner (Applied Biosystems, versión 1.0).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron análisis SSR-PCR de muestras de hojas de Chañar (control positivo) y de productos alimenticios de chañar, para corroborar tamaños de fragmentos esperados. En la Figura N° 1 se puede observar la diversidad de alelos amplificado con los marcadores Gsp.B284 y Gsp.B264 a partir de hojas árboles de chañar de diferentes zonas geográficas. En la Figura N° 1A se observa los alelos 307/317 (materno y paterno) obtenido con la muestra de Pachica, los alelos 303/317 obtenido con la muestra de Azapa, los alelos 309/343 obtenidos con la muestra de San Pedro de Atacama y los alelos 297/303 obtenidos con la muestra de Copiapó. Por otro lado, la Figura N° 1B se observa los alelos 174/176 obtenido con la muestra Azapa, los alelos 172/174 obtenidos con la muestra San Pedro de Atacama y los alelos 168/174 obtenidos con la muestra Copiapó. Los tamaños de los alelos obtenidos de ADN de hoja de árboles de distintas zonas geográficas fueron 297, 303, 307, 309, 317 y 343 con el marcador Gsp.B284 y los alelos 168, 172, 174 y 176 con el marcador Gsp.B264 (Figura N° 1). Estos tamaños de alelos son similares a los observados en harinas de chañar, como se puede observar en las Figuras N° 2 y N° 3.

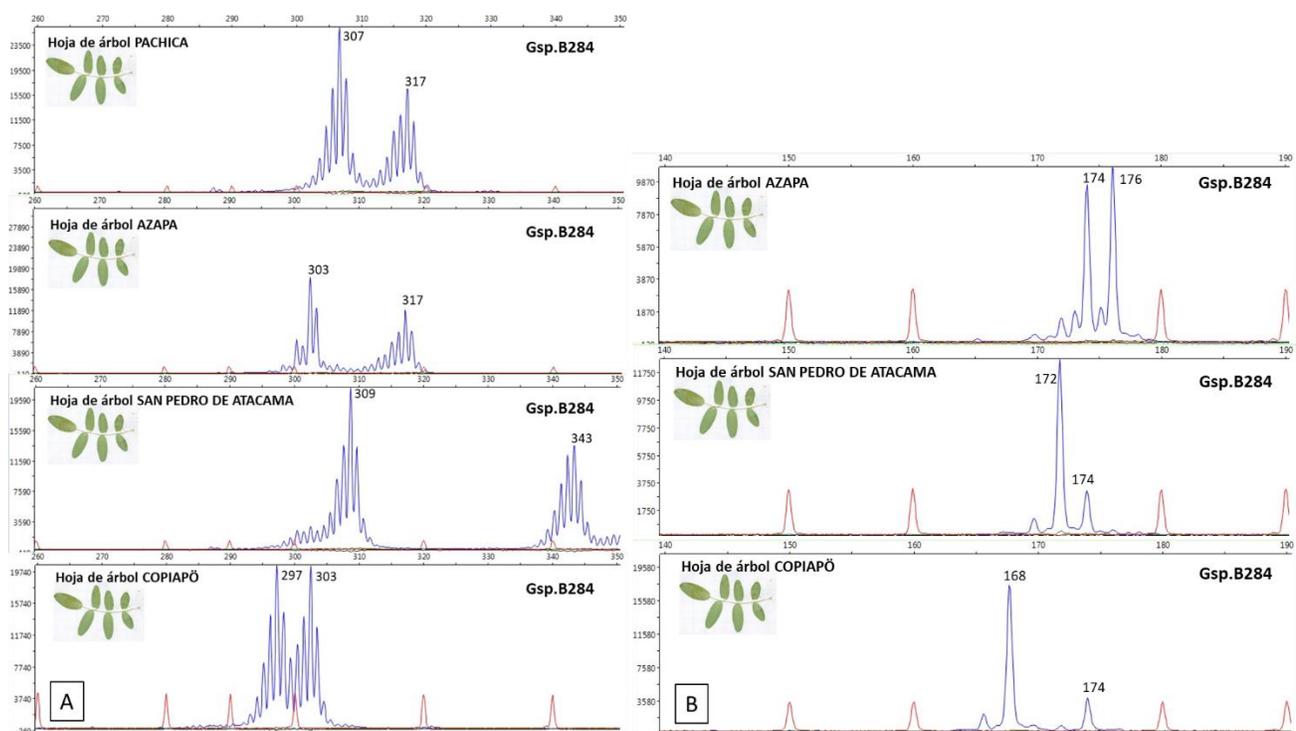


Figura N° 1

Electroferograma de productos de PCR de cuatro árboles de chañar de Pachica, Valle de Azapa, San Pedro de Atacama y Copiapó obtenido con el marcador SSR Gsp.B284 (A). Electroferograma de productos de PCR de tres árboles de chañar del Valle de Azapa, San Pedro de Atacama y Valle de Copiapó obtenido con el marcador SSR Gsp.B264 (B)

Dentro de las acciones más importantes del trabajo, se pretende buscar la caracterización genética de alimentos de chañar de distinta procedencia del norte de Chile. Para ello se realizaron análisis de fragmento de productos de PCR con ADN de harina de chañar de cinco localidades, Azapa, Pachica, San Pedro, Calama y Copiapó, usando cinco marcadores moleculares microsatélites Gsp.B264 y Gsp.A021, Gsp.B284, Gsp.A104 y Gsp.A149 (Figuras N° 2 y N° 3). Se detectó un alelo exclusivo de 168 pb en harina de chañar de Copiapó con el marcador Gsp.B264, no siendo encontrado en harinas de Azapa, Pachica, Calama y San Pedro de Atacama. Así también, se observaron alelos exclusivos de harina de Copiapó de 276 pb, 287 pb y 107 pb con el marcador Gsp.021, Gsp.B284 y Gsp.A149, respectivamente (Figuras N° 2 y N° 3). Por otro lado, se detectaron fragmentos exclusivos en harinas de otras localidades que no están

presentes en muestras de harina de Copiapó. En los análisis de fragmento de harina de San Pedro de Atacama se pueden observar alelos exclusivos de 209 pb y 232 pb con el marcador Gsp.B284 y Gsp.A104, respectivamente (Figuras N° 3A y N° 3B). Así también, en la harina de Azapa se observan alelos exclusivos de 292 pb y 133 pb con los marcadores Gsp.B284 y Gsp.A149, respectivamente (Figuras N° 3A y N° 3C). Estos polimorfismos observados con marcadores SSR en frutos de chañar (que en algunos casos podrían ser pseudogenes) pueden apoyar la justificación de DO de la harina de chañar del Valle de Copiapó y también de otras localidades del norte de Chile.

A partir de la aplicación de microsatélites en harina de chañar, se logró discriminar la harina del Valle de Copiapó de otras zonas geográficas del norte de Chile donde está establecida la especie. En un estudio desarrollado por Martins-Lopes *et al.* (2008), descubrieron una asociación de cultivares de olivo aceitero con su zona geográfica, aportando su caracterización a la protección con denominación de origen (DO) de variedades portuguesas, todo ello con marcadores RAPD, ISSR y SSR. En Francia los clones de vides poseen naturalmente su propia huella genética para el control de denominación de origen de vinos, evidenciado con marcadores de ADN. Por otro lado, algunos mostos mezclados con dos diferentes cultivares pueden ser identificados con marcadores SSR en el mismo producto y por separado (Rodríguez-Plaza *et al.*, 2006; Faria *et al.*, 2008). El código genético es eficaz para garantizar el origen y calidad de materias primas y la detección de adulteraciones que ocurren en las cadenas industriales de alimentos, como la mezcla de productos de diferentes taxones.

En conclusión, este trabajo describe por primera vez un método para discriminar harinas de chañar de distintas zonas geográficas del norte de Chile a partir de marcadores microsatélites. La información obtenida podría justificar técnicamente la DO de la harina de chañar del Valle de Copiapó, con el fin de contribuir a un mayor valor agregado del producto, como también, mejorar el control de calidad y autenticidad.

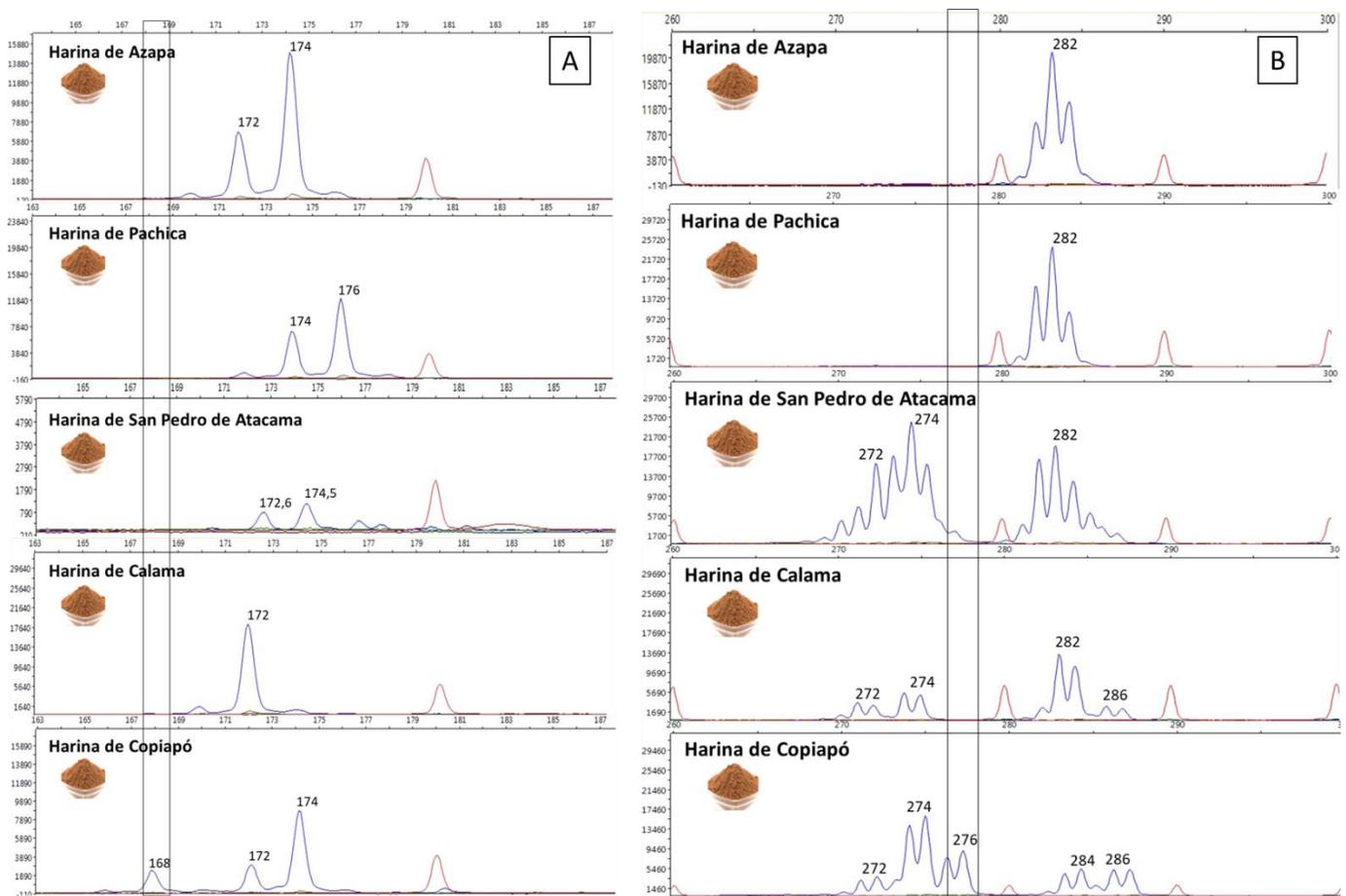


Figura N° 2

Caracterización genética de harina de chañar de cinco localidades del norte de Chile con (A) el marcador Gsp.B264 y (B) con el marcador Gsp.A021

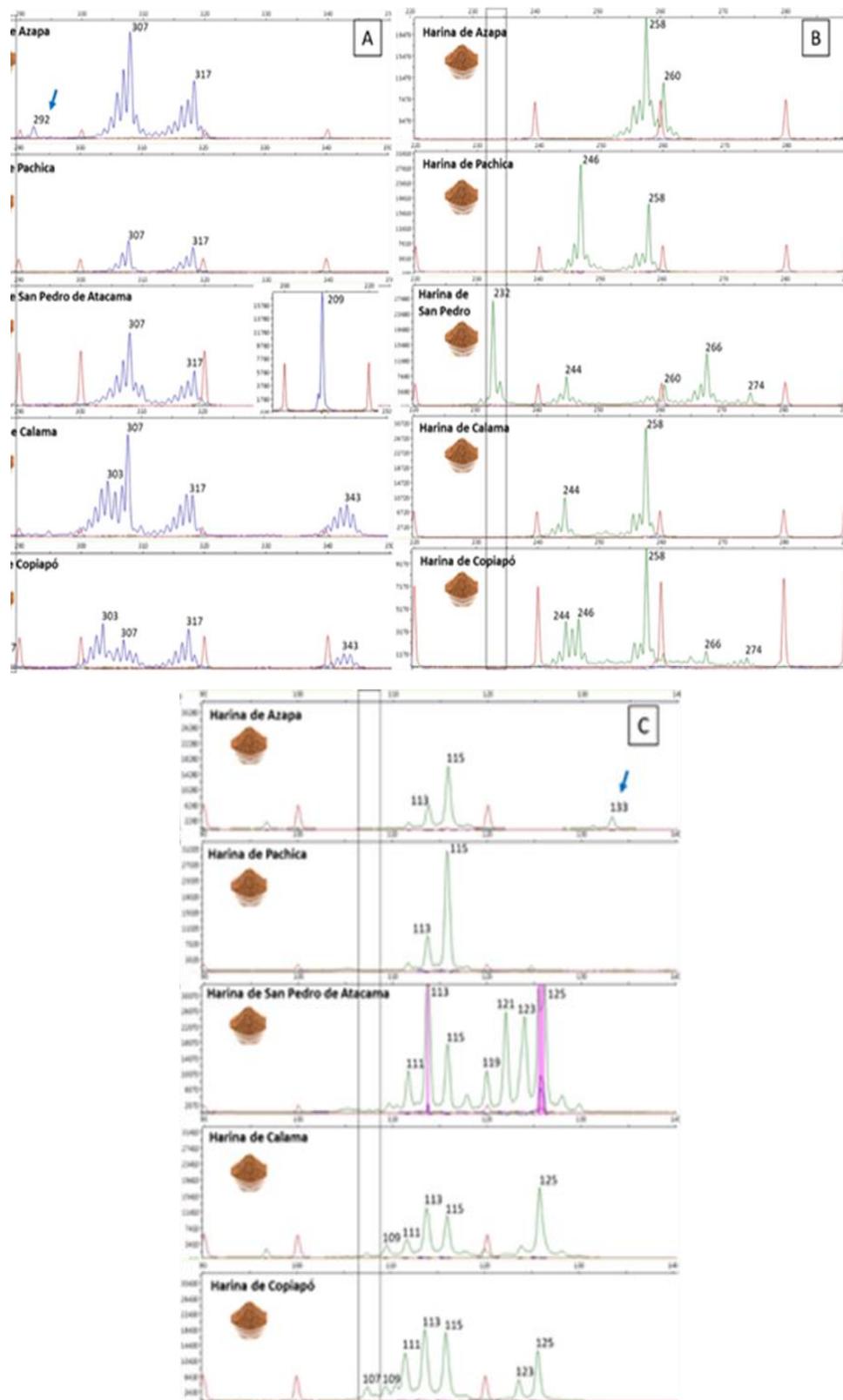


Figura N° 3

Caracterización genética de harina de chañar de cinco localidades del norte de Chile con el marcador Gsp.B284 (A), con el marcador Gsp.A104 (B) y con el marcador Gsp.A149 (C)

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el financiamiento proporcionado por el proyecto FIC BIP 30432984-0, y el apoyo de la microempresaria y productora de alimentos de chañar, Sra. Elena Molina (Copiapó), así como también a todas las microempresarias de arropo y harina de chañar del Valle de Copiapó.

## REFERENCIAS

- Contreras R, Porcile V, Guggiana-Nilo D, Aguayo F. 2019. An efficient protocol to perform genetic traceability of tissue and foods from *Geoffroea decorticans*. **Chil J Agric Anim Sci** 35: 224-237. <https://doi.org/10.4067/S0719-38902019005000402>
- Contreras R, Calle I, Osses R, Aguayo F, Porcile V, Arias M. 2021. Identificación genética del orégano de Putre (*Origanum vulgare* L.) mediante ITS y microsatélites, una especie reconocida en Chile con Sello de Origen. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 20: 177-194. <https://doi.org/10.37360/blacpma.21.20.2.14>
- Costagama MS, Zampini IC, Alberto MR, Cuello S, Torres S, Pérez J, Quispe C, Schmeda-Hirrschmann G, Isla MI. 2016. Polyphenols rich fraction from *Geoffroea decorticans* fruits flour affects key enzymes involved in metabolic syndrome, oxidative stress and inflammatory process. **Food Chem** 190: 392-402. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.068>
- Faria MA, Nunes E, Oliveira MBPP. 2008. Relative quantification of *Vitis vinifera* L. cultivars in musts by microsatellite DNA analysis. **Eur Food Res Technol** 227: 845-850. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0795-5>
- Galimberti A, De Mattia F, Losa A, Bruni I, Federici S, Casiraghi M, Martellos S, Labra M. 2013. DNA barcoding as a new tool for food traceability. **Food Res Int** 50: 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.036>
- Hurrell JA, Ulibarri E. 2011. Leguminosas medicinales y alimenticias utilizadas en la conurbación Buenos Aires-La Plata, Argentina. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 10: 443-455.
- INAPI. 2017. Aceite de oliva extra virgen del Valle del Huasco. <http://www.sellodeorigen.cl/611/w3-article-3048.html>
- Martins-Lopes P, Gomes S, Santos E, Guedes-Pinto H. 2008. DNA markers for Portuguese olive oil fingerprinting. **J Agric Food Chem** 56: 11786-11791. <https://doi.org/10.1021/jf801146z>
- Naciri-Graven Y, Caetano S, Prado D, Pennington RT, Spichiger R. 2005. Development and characterization of 11 microsatellite markers in a widespread Neotropical seasonally dry forest tree species, *Geoffroea spinosa* Jacq. (Leguminosae). **Mol Ecol Notes** 5: 542-545. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.00982.x>
- Reynoso MA, Sánchez-Riera A, Vera NR. 2016. Nutraceutical properties and safety evaluation of fruits and arropo of *Geoffroea decorticans* (Chañar). **J Nut Food Sci** 6: 485. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000485>
- Rodríguez-Plaza P, Gonzalez R, Moreno-Arribas MV, Polo MC, Bravo G, Martínez-Zapater JM, Martínez MC, Cifuentes A. 2006. Combining microsatellite markers and capillary gel electrophoresis with laser-induced fluorescence to identify the grape *Vitis vinifera* cultivar of musts. **Eur Food Res Technol** 223: 625-631. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0244-2>
- Romero C, Díaz R, Droguett A. 2015. Una nueva oportunidad para la agricultura familiar. **Rev Agron Forest** 51: 20-25.
- Squeo FA, Arancio G, Gutiérrez JR. 2008. **Libro rojo de la flora nativa y de los sitios prioritarios para su conservación: Región de Atacama**. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile.