

GENÓMICA FUNCIONAL, IDENTIFICACIÓN DE GENES Y MARCADORES GENÉTICOS

Patricio Hinrichsen R.
phinrichsen@inia.cl

Nilo Mejía
Manuel Pinto C.
Carlos Muñoz S.
INIA La Platina

La tecnología hace hoy posible dar apoyo real a los programas de mejoramiento de plantas usando marcadores genéticos que posibiliten la selección precoz de los individuos más destacados. Para ello se recurre a la "genómica funcional", que permite estudiar la expresión de todos los genes de una planta de manera simultánea. Esto se logra midiendo los cambios de los RNA mensajeros (transcriptómica), las proteínas (proteómica) o los metabolitos (metabolómica) de un organismo o tejido sometido a diferentes condiciones. Las técnicas indicadas permiten estudiar caracteres que tienen una estructura genética compleja y cuya expresión es el reflejo de la interacción de muchos genes, como los involucrados en determinar la calidad, el rendimiento o la resistencia a diversos tipos de estrés. En vides, en el INIA nos hemos enfocado en estudiar los genes



Uvas sin (izquierda) y con tratamiento de giberelina (derecha) expresan un distinto set de genes.

asociados a la ausencia de semilla (apirenia) y al tamaño de las bayas.

En colaboración con varias universidades nacionales se generó una colección de 130.000 ESTs (por la sigla inglesa Expressed Sequence Tags), que corresponden a cADN, es decir, copias de fragmentos de genes obtenidos a partir de los ARN mensajeros aislados de diferentes estados de desarrollo y condiciones fisiológicas. Muchos de estos ESTs fueron réplicas parciales de un mismo gen, los que se ensamblan en "contigs" (segmentos de ADN sobrepuestos) mediante bioinformática, identificándose finalmente unos 25.000 "unigenes" o genes no repetidos. Cinco mil de estos

unigenes se dispusieron en una membrana para constituir el primer "micro-arreglo" usado en hibridaciones con muestras de interés. Lo anterior permitió identificar genes que aumentan, que no cambian o que disminuyen su nivel de expresión en cada condición experimental.

El análisis de cADNs obtenidos de bayas en dos estados de desarrollo llevó a identificar cientos de genes que cambiaron su nivel de expresión, entre ellos a los genes de las acuaporinas, las proteínas que forman los poros responsables del transporte del agua a las bayas y determinan su tamaño final.

Una vez identificados los posibles genes asociados a un ca-

rácter dado, es indispensable demostrar su función, lo que estamos haciendo usando ingeniería genética. Paralelamente, estamos caracterizando las formas alélicas del o de los genes que se "encienden" o se "apagan" bajo diferentes condiciones. Con ese fin, se secuencian el gen candidato en individuos con fenotipos contrastantes, para asociar diferencias específicas dentro del gen con ese fenotipo. Los SNP (del inglés Single Nucleotide Polymorphism), por ejemplo, representan cambios de una base en un sitio determinado del genoma. Además, estamos saturando mapas de ligamiento genético en torno a las regiones en las cuales hemos localizado los llamados QTLs (del inglés Quantitative Trait Loci) para apirenia y tamaño de baya, entre otros caracteres en estudio.

También estamos comparando los genes encontrados en vides con los encontrados en otras especies como *Arabidopsis*, tomate o arroz, y que ya tienen función conocida. Así hemos identificado más de 150 "genes candidatos" que podrían tener relación con la apirenia o el tamaño de baya. De ellos, varios se asocian con los QTLs ya señalados, siendo un factor de transcripción vinculado al desarrollo floral el candidato más obvio que explicaría la ausencia de semilla.


Estos estudios son de utilidad tanto para productores como para científicos. Los primeros se beneficiarán porque la generación de variedades mejoradas será más eficiente, y los segundos porque podrán explicar las causas del comportamiento de las plantas y con ello desarrollar nuevas tecnologías útiles para la agricultura. 

Figura 1. Análisis bioinformático de genes sobrexpresados (puntos más oscuros) o reprimidos (verde) comparando diferentes tratamientos o estados de desarrollo de bayas del cv. Sultanina. A la derecha se muestra una representación de los cambios de la expresión de cada uno de los genes de acuaporina identificados en el cv. Sultanina, comparando bayas al estado de 6 mm y en preenvero.

