

MARCADORES MOLECULARES EN EL DE PLANTAS

Mario Paredes C.
mparedes@quilamapu.inia.cl

Viviana Becerra V.
INIA Quilamapu

Mario Mera K.
INIA Carillanca

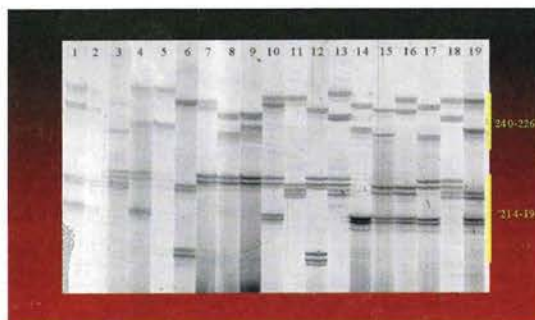
Patricio Hinrichsen R.
INIA La Platina

Los marcadores moleculares permiten seleccionar los padres en un programa de mejoramiento genético. Sirven también para facilitar el desarrollo de nuevas variedades, ya que permiten identificar un gen (o grupo de genes) responsable de una característica deseable, pero difícil de detectar por la simple apariencia. Además de estas utilidades, los marcadores permiten saber a qué variedad pertenece una planta, estimar su base genética y determinar su origen.

El mejoramiento de plantas tiene por objetivo producir variedades con características superiores a las ya existentes. Para tal efecto, es necesario identificar ejemplares o "individuos" superiores. Tradicionalmente, este procedimiento se ha realizado seleccionando el fenotipo (aparición) del individuo. Sin embargo, el fenotipo de una planta está determinado por su constitución genética, por el ambiente en que crece y por la interacción de ambos factores. No siempre el fenotipo es un buen indicador del genotipo de la planta, especialmente cuando las características tienen una alta influencia ambiental. Es el caso, por ejemplo, del rendimiento. Por esta razón, en los últimos años se ha desarrollado una serie de métodos basados en el examen directo del ADN, todos destinados a detectar polimorfismo (diferencias) a nivel genético. Actualmente, los marcadores moleculares más recurridos son los RFLP (polimorfismo de fragmentos de restricción), RAPD (amplificación al azar de ADN), AFLP (fragmentos polimórficos de ADN amplificado) y SSR (secuencias simples repetidas), entre otros. Las ventajas de los marcadores moleculares con respecto a los morfo-

lógicos se muestran en el cuadro 1. Los marcadores morfológicos son características de las especies o variedades, que se pueden apreciar visualmente, por ejemplo, color de grano y altura de planta, entre otros. Sus principales desventajas son su limitación en número (15 a 20 características por variedad), mientras que la cantidad de marcadores moleculares es mucho más amplia (miles), pudiendo llegar a cubrir todo el genoma. Otra desventaja importante del fenotipo es que muchas de las características fenotípicas están influenciadas por el ambiente en que crece la planta; en cambio los marcadores moleculares son fijos, ya que describen el genotipo (constitución genética) de la planta. Esto permite una mejor discriminación entre individuos fenotípicamente similares.

En el caso de interacción alélica, el ejemplo más clásico es el albinismo en plantas. Éste es un gen que presenta dos formas, dominante (A) y recesiva (a). Los individuos con ambos alelos recesivos "aa" no producen pigmentación verde, generando un fenotipo blanco, que no realiza fotosíntesis, lo que determina la muerte del individuo de la población (efecto deletéreo). Para este mismo gen, los genotipos "AA" y "Aa" presentan el mismo fenotipo con pigmentación verde, mientras que mediante los marcadores moleculares el segundo fenotipo se distingue del primero por la presencia de dos bandas de distinto tamaño. Al existir más de dos alelos (alelos múltiples), los marcadores moleculares son capaces de distinguir las formas alélicas existentes dentro de la población.



Identificación genética de 19 cultivares de vid usando marcadores de microsatélites. Todos los cultivares de importancia en Chile se pueden diferenciar genéticamente con estos dos marcadores de microsatélite.

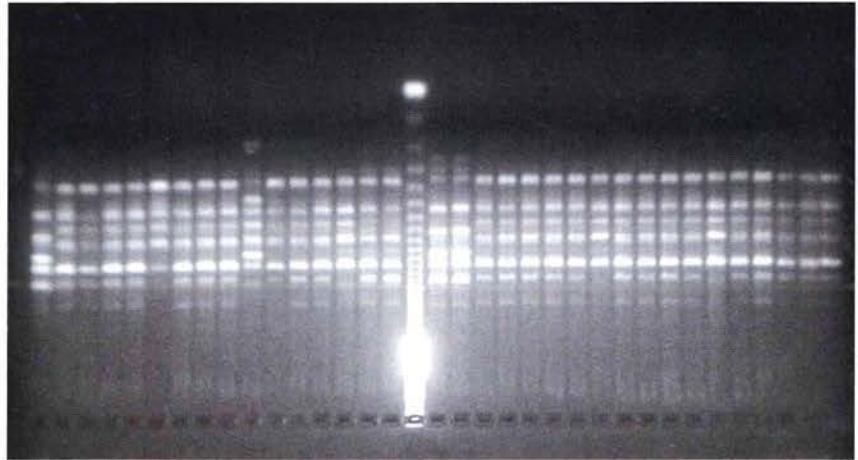
MEJORAMIENTO

La epistasis y pleiotropía, son consideradas acciones génicas. En el caso de la epistasis el fenotipo observado es el producto de la interacción de dos o más genes. La pleiotropía es la acción de un gen que afecta dos características. En ambos casos es difícil detectar los genes individualmente. En cambio los marcadores son capaces de detectar genes y alelos individuales.

Los marcadores moleculares pueden ser usados en forma complementaria a los métodos convencionales, en diferentes etapas del mejoramiento genético, como se describe a continuación.

Análisis de diversidad genética

Un requisito básico para mejorar la productividad de una especie es contar con suficiente variabilidad genética para las características que se desean mejorar. Un mayor conocimiento de la constitución genética de las especies cultivadas y silvestres también puede permitir un uso más eficiente del germoplasma en el mejoramiento de plantas. Actualmente, muchas variedades comerciales tienen una base genética estrecha, lo cual las expone a problemas de vulnerabilidad ante factores bióticos (tales como enfermedades, insectos, nematodos) y abióticos (por ejemplo, fotoperíodo, temperatura, estrés hídrico). El uso de marcadores moleculares permite la detección de materiales genéticamente similares (ver



Variabilidad genética de ajos medida por RAPDs, partidor OPA-11. Cada carril representa un genotipo y en el carril del medio se encuentra el estándar Ladder de 123 pb.

fotografía en esta página) y, por ende, la ampliación de la base genética de las futuras variedades.

Además, los marcadores moleculares pueden ser usados para determinar la estructura de la diversidad genética de una especie (dentro de poblaciones y entre ellas), la distribución geográfica de esta diversidad y el nivel de introgresión o movimiento de genes desde otras especies.

Elección de los progenitores

Es uno de los aspectos más importantes del mejoramiento, ya que si los progenitores escogidos no son los adecuados, no se encontrarán los individuos deseados en la descendencia. En algunos casos, el procedimiento se realiza evaluando cientos o miles de plantas, para seleccionar aque-

llas que posean las características que se desea mejorar y transferir. En este sentido, los marcadores moleculares ayudan a seleccionar padres genéticamente diversos, con características bien definidas, especialmente aquellas altamente influenciadas por el medio ambiente, difíciles de evaluar en terreno, o que se expresan en períodos tardíos del desarrollo de la planta.

Cruzamiento de los padres seleccionados

Tiene por objeto transferir genes que controlan características deseadas de un genotipo a otro. Se utilizan materiales cultivados y silvestres, por lo general pertenecientes a la misma especie. También es posible hacer cruzamientos entre especies cercanas genéticamente, pero a medida que aumenta la distancia la transferencia de genes y obtención de progenie fértil se hace cada vez más difícil. Debido a dicha situación, en algunos casos es necesario utilizar técnicas especiales, tales como el rescate de embriones. En ese contexto, los marcadores moleculares podrían ser de gran utilidad en detectar diferentes grados de incompatibilidad entre los padres mejorantes y determinar niveles de eficiencia en los cruzamientos efectuados.

Cuadro 1

Principales características de los marcadores morfológicos y moleculares

Concepto	Marcadores morfológicos	Marcadores moleculares o de ADN
Caracterización	Fenotípica	Genotípica
Análisis	Todo el organismo	Órgano, tejido, célula
Número de alelos	Reducido	Alto
Asociación de alelos	Presencia de efectos deletéreos	Ausencia de efectos deletéreos
Interacción génica	Epistasis y pleiotropía	Nula
Control genético	Dominancia	Codominancia, dominancia

GLOSARIO

- ✓ **ADN:** ácido desoxirribonucleico, molécula que contiene la información genética.
- ✓ **Alelo:** una de dos o más formas alternativas de un gen. Alelos diferentes generalmente tienen efectos diferentes en el fenotipo.
- ✓ **Codominancia:** ambos alelos producen efectos detectables cuando están presentes en un individuo. Analizado como un marcador molecular codominante, tal individuo se caracteriza por la presencia de dos bandas, correspondientes a los dos diferentes alelos.
- ✓ **Dominancia:** fenómeno por el cual un alelo enmascara la expresión del otro alelo cuando ambos están presentes en un individuo, de modo que sólo el alelo dominante se expresa.
- ✓ **Epistasis:** interacción de dos o más genes, que determina un fenotipo nuevo.
- ✓ **Fenotipo:** apariencia física o externa de un individuo.
- ✓ **Gen:** unidad hereditaria, con una posición específica en el cromosoma.
- ✓ **Genotipo:** composición genética del individuo.
- ✓ **Genoma:** un juego de cromosomas, como los presentes dentro de un gameto; número haploide de cromosomas dentro de la especie.
- ✓ **Germoplasma:** colección de material genético dentro de una especie.
- ✓ **Introgresión:** transferencia de pequeñas cantidades de información genética desde una especie (o género) a otra.
- ✓ **Pleiotropía:** situación genética en la cual un solo gen afecta a varias características.
- ✓ **Polimorfismo:** condición de un gen, en la cual una variante alélica es más común de lo que puede explicarse por mutación espontánea. En el caso de los marcadores de ADN, las variantes alélicas son identificadas por diferencias en el tamaño de los fragmentos de ADN producidos por un método en particular (RFLP, RAPD, AFLP, SSR, etc.).
- ✓ **Variabilidad genética:** toda la variabilidad (diversidad) génica y alélica presente en una especie.



El albinismo en plantas es un clásico ejemplo de interacción de alelos. Los individuos con ambos alelos recesivos no producen pigmentación verde, generando un fenotipo blanco. En la foto, plantas dobles haploides de trigo obtenidas a través de cultivo de anteras.

truido mapas de ligamiento genético (cromosomas) en casi todas las especies de interés económico. Los mapas permiten ubicar las características productivas de interés y los marcadores moleculares en posiciones específicas dentro de los cromosomas. La selección asistida de plantas mediante marcadores moleculares es un método indirecto de selección. Se basa en la detección de un marcador que se encuentre estrechamente ligado al gen de interés. Cuanto menor es la distancia física entre ambos, mayor es la probabilidad de seleccionar por medio del marcador molecular la característica deseada. A través del procedimiento indicado es

posible seleccionar plantas resistentes a factores bióticos y abióticos, con superior calidad de grano (proteínas, aceite), madera (densidad, contenido de lignina) o adaptación (precocidad). Tales plantas posteriormente pueden dar origen a variedades mejoradas.

Identificación de variedades

Una vez obtenida la variedad, los marcadores

moleculares pueden contribuir a describir e identificar genéticamente este nuevo material, proceso conocido como "fingerprinting" (que podría traducirse literalmente como "huella digital"). La aplicación de este procedimiento podría contribuir a un mejor control de calidad (pureza) y, particularmente, a la protección varietal. ▲

Selección de plantas

La selección de plantas que poseen los genes que controlan las características agronómicas deseadas es otra de las fases importantes del mejoramiento. Se persigue identificar aquellas plantas que posean la combinación de genes desea-

dos que debería tener la futura variedad. El proceso de selección puede tomar varios años y acarrear un alto costo, especialmente en especies arbóreas, donde la selección temprana de las plantas adecuadas puede significar un ahorro considerable de tiempo, espacio, trabajo y costo. Para lograr este objetivo, se han cons-



LABORATORIO DE ANALISIS AGRICOLA
SUELO · FOLIAR · AGUA · OTROS

- Laboratorio especializado en análisis para diagnóstico nutricional.
- Interpretación de análisis por especialistas.
- Servicio de toma de muestras en terreno.
- Recibimos muestras, vía buses, desde cualquier punto del país.