

MEJORAMIENTO MOLECULAR

EFECTIVA INTEGRACIÓN DEL
GENÉTICO Y LA

Hugo Campos de Quiroz
Ingeniero Agrónomo, Ph. D.
hcampos@carillanca.inia.cl

INIA Carillanca

Artículos anteriores de Tierra Adentro han presentado las oportunidades de desarrollo y las ventajas competitivas que las distintas ramas de la biotecnología vegetal ofrecen a nuestra agricultura. Puesto que de uno u otro modo todo producto o proceso biotecnológico vegetal pretende llegar al mercado, existe una íntima relación entre biotecnología vegetal y el mecanismo de desarrollo y liberación de nuevas variedades, el mejoramiento genético. El mejoramiento molecular corresponde a la integración racional de la biotecnología y el mejoramiento genético, maximizándose así las ventajas derivadas de ambas áreas de la ciencia.

Cuando el hombre adoptó un estilo de vida sedentario, de manera inconsciente inició el mejoramiento genético de plantas al seleccionar frutos sin espinas o libres de productos tóxicos, semillas de mayor tamaño, mejor sabor, y así sucesivamente. En forma más reciente, se aplicaron las ciencias, entre ellas la estadística, fisiología vegetal, biología, bioquímica y ecología de poblaciones. Se estima que durante los últimos 30 años la mitad del aumento de los rendimientos de los principales cultivos se debe al mejoramiento genético, teniendo como elemento central la experiencia adquirida durante muchos años de la evaluación de genotipos, fundamental para el desarrollo de nuevas variedades.

Aún cuando la enorme potencialidad del ADN recombinante permite integrar biotecnologías a diversos puntos de la cade-

na del mejoramiento genético, a objeto de maximizar sus ventajas y minimizar sus efectos colaterales es crucial generar una estrecha interacción científica y metodológica con el fitomejoramiento. Existen múltiples razones que sustentan lo anterior; entre ellas destacan:

- La disponibilidad de genotipos, uno de los factores limitantes reales de la biotecnología, puesto que determina tanto la cantidad de genes disponibles como los genotipos que recibirán tales genes.
- Los productos biotecnológicos requieren de un exhaustivo análisis de campo antes de ser liberados al mercado. Los profesionales más idóneos para realizar tal labor son mejoradores de plantas.
- El fitomejoramiento precisa de nuevas metodologías que incrementen la velocidad de avance y la precisión de sus procesos.

Entre las principales dificultades de la biotecnología vegetal figuran las desmedidas expectativas asociadas con ella. Propuestas como el desarrollo de cereales fijadores de nitrógeno y otras similares facilitaron su impulso inicial, pero rápidamente se observó que, si bien son técnicamente factibles, el desarrollo de tales productos no era tan rápido como lo originalmente propuesto. Se predijo además que la biotecnología eliminaría al mejoramiento genético como ciencia y que la generación de variedades correspondería a una actividad de laboratorio. Sin embargo, en la práctica se ha visto que las principales empresas bio-

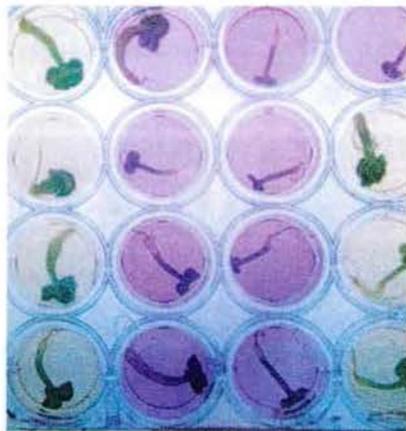


Foto 1. Selección rápida de plantas transgénicas de raps. Las plantas transgénicas auténticas tienen el medio de cultivo de color rosado.

MEJORAMIENTO

BIOTECNOLOGÍA

tecnológicas mundiales, como son Dupont, Monsanto y Novartis, han establecido completos programas de mejoramiento genético o, en su defecto, adquirido compañías especializadas en la materia, a objeto de facilitar la liberación al mercado de sus cultivares transgénicos. Para establecer estrategias efectivas de desarrollo, es necesario analizar los componentes de un sistema de mejoramiento molecular: desarrollo y manejo de variabilidad genética, selección de individuos y homogeneización genética, multiplicación y certificación de cultivares mejorados.

Desarrollo y manejo de variabilidad

En ausencia de variabilidad el avance genético no es posible. En la medida que un programa de mejoramiento genético disponga de una limitada cantidad de genes, el número potencial de combinaciones también será limitado, reduciéndose la probabilidad de identificar individuos que posean las combinaciones de genes exigidas por el mercado.

Uso de marcadores moleculares: con la biotecnología se incrementa la precisión de los procesos generadores de variabilidad y se explota en mayor grado la variación existente. Lo anterior se puede lograr integrando sistemas de marcadores moleculares para analizar directamente la variabilidad disponible al nivel del ADN. Así, es posible determinar niveles de diversidad genética, organizar la variabilidad molecular disponible y



Foto 2. M: Marcador de peso molecular. Los carriles marcados con asterisco corresponden a genotipos que presentan un gen asociado con calidad panadera en trigo, detectado de forma rápida mediante PCR (Zúñiga, Jobet y Campos de Quiroz).



Foto 3. En nuestro país se han desarrollado plantas dihaploides en arroz y otros cultivos.



diseñar cruzamientos utilizando como información adicional valores de diversidad molecular, con lo que aumentan las probabilidades de generar individuos sobresalientes. Del mismo modo, es factible monitorear la variabilidad genética de los programas de mejoramiento y determinar la pertinencia de introducir nuevas fuentes de variabilidad.

Otra aplicación de importancia es el uso de marcadores moleculares que permiten definir con mayor precisión cuáles recursos genéticos ocupar y cómo utilizarlos. INIA Quilamapu e INIA Carillanca desarrollan investigación en esta área.

Transgénesis: el empleo de materiales transgénicos potencialmente pone a disposición del mejorador todos los genes existentes en el planeta y, además, aquellos genes sintéticos construidos en laboratorios. La foto 1 (página 30) presenta una etapa del desarrollo de plantas transgénicas, la selección *in vitro*.

La transgénesis incrementa el rango de genes disponibles para mejoramiento genético. No obstante lo anterior, la aparición de fenómenos como el silenciamiento de transgenes (ver glosario), sugiere la necesidad de una estrecha relación entre esta biotecnología y el mejoramiento genético. La evaluación final de todo producto biotecnológico debe desarrollarse bajo condiciones de invernadero y de campo con el objeto de determinar el efecto del ambiente sobre la expresión de transgenes. Finalmente, es importante considerar la actitud de los consumidores frente a los productos transgénicos.

Los proyectos Fondef y FDI para obtener papas resistentes a pudriciones bacterianas y manzanos resistentes a venturia, realizados por INIA (Remehue y La Platina)/Universidad Católica de Chile e INIA Carillanca/Universidad de Chile, respectivamente, constituyen

ejemplos de desarrollo de plantas transgénicas en nuestro país, entre otros.

Selección *in vitro*: la transgénesis no es la única alternativa biotecnológica para generar variabilidad genética inexistente en la naturaleza. La primera variedad de trigo resistente a herbicidas de la familia de las imidazolinonas se obtuvo por mutagénesis y selección *in vitro*, desarrollando cultivos celulares en medios de cultivo con elevados niveles de herbicidas. Para lo anterior, se identificaron células resistentes a partir de las cuales se produjeron plantas adultas resistentes a tales herbicidas.

Manejo *in vitro* de genotipos valiosos: la mantención *in vitro* por períodos prolongados facilita un manejo expedito de la variabilidad generada. Mediante financiamiento Fondecyt, INIA Carillanca desarrolla metodologías que permiten mantener *in vitro*, bajo crecimiento retardado y criopreservación, los progenitores utilizados para desarrollar variedades de trébol rosado. Anteriormente esos progenitores se perdían y sólo se almacenaba su semilla, lo que dificulta el fitomejoramiento de esta especie forrajera.

Selección de individuos y homogeneización genética

Una vez generada la variabilidad genética, es necesario identificar genotipos sobresalientes y estabilizarlos genéticamente para impedir su segregación. De esta forma se asegura la transmisión del carácter deseado a su descendencia.

Uso de marcadores moleculares: La mayoría de los caracteres de importancia agronómica se encuentran regulados por varios genes de reducido impacto individual cuya expresión se afecta por las condiciones ambientales. En consecuencia, su mejoramiento tradicional es lento e ineficaz.

El desarrollo de marcadores moleculares y mapas genéticos para especies como trigo, arroz, maíz, cebada, papa, tomate, arveja, lupino, poroto y raps, entre otros, ha permitido el análisis de tales características mediante "QTL" (ver definición en el recuadro). Con ello, es posible seleccionar individuos basándose en la identificación de marcadores moleculares estrechamente ligados a un carácter de interés. Existen diferentes alternativas tecnológicas al respecto, colectivamente conocidas como MAS ("Marker Assisted Selection" o selección asistida por marcadores moleculares), que ofrecen las siguientes ventajas:

- Permiten seleccionar en cualquier etapa de desarrollo de las plantas. Por ejemplo, elegir al estado de plántula aquellas que expresarán el carácter al estado adulto.
- Mediante la identificación de genes de resistencia, es posible determinar los individuos resistentes a una enfermedad aún en ausencia del patógeno analizado. En el sistema de mejoramiento tradicional, la gran variabilidad de los niveles de

GLOSARIO

- **Transgén:** gen creado artificialmente mediante biología molecular para su introducción a una planta mediante transgénesis. Posee tres subcomponentes generales, un gen promotor, un gen estructural y un gen de selección.
- **Silenciamiento de transgenes:** conjunto de fenómenos por los cuales un transgén no manifiesta la característica esperada.
- **QTL:** sigla en inglés de "Quantitative Trait Loci", descripción molecular de los poligenes, o caracteres regulados por numerosos genes.
- **PCR:** Sigla de "Polymerase Chain Reaction", o reacción en cadena de la Adn polimerasa. Sistema que permite amplificar segmentos específicos de ADN. Se trata de una "fotocopiadora genética".
- **Planta dihaploide:** Corresponde a una planta generada mediante la duplicación cromosómica de tejidos producidos *in vitro* a partir de un grano de polen.

directamente los genes que las codifican en lugar de las proteínas asociadas con una buena calidad panadera en poblaciones de mejoramiento genético. De este modo, se flexibiliza y acelera el proceso de selección de genotipos de trigo con componentes de calidad agroindustrial.

Homogeneización

Esta es una de las etapas más extensas del mejoramiento. La producción de plantas dihaploides (ver definición en recuadro) generadas en cultivos *in vitro* a partir de granos inmaduros de polen permite la rápida obtención de plantas genéticamente estables, con las siguientes ventajas:

- Los resultados se obtienen rápidamente. Para un cereal como trigo o cebada, son necesarias cinco temporadas de autopolinización para conseguir un grado de pureza superior al 95 por ciento. Mediante biotecnología las plantas se generan en un período máximo de 12 meses y presentan un 100 por ciento de pureza. Lo anterior permite reducir entre tres a cuatro años el tiempo de desarrollo de nuevos cultivares, el cual para cereales de invierno alcanza a 14 ó 15 temporadas.

- Debido a sus ventajas genéticas, las plantas dihaploides permiten reducir las poblaciones de mejoramiento empleadas. Además, se aumenta la expresión de caracteres regulados por alelos recesivos y, por lo tanto, la eficiencia de su selección.

En nuestro país se han desarrollado plantas dihaploides en cebada, raps, trigo y arroz. La implementación de sistemas de mejoramiento molecular basados en plantas dihaploides reduce el tiempo de retorno financiero, lo cual debiera estimular la

inversión en mejoramiento genético. Del mismo modo, permite acelerar la velocidad de respuesta de los programas de mejoramiento genético al mercado, lo que incrementa su valor económico y estratégico.

Multiplicación y certificación de cultivares mejorados

La última etapa del mejoramiento genético es evaluar el comportamiento agronómico de aquellos individuos seleccionados, multiplicar, certificar y liberar las nuevas variedades. Aunque su fuerte componente de campo supedita esta fase a los mejoradores, existe una aplicación muy importante de la biotecnología. La protección de la propiedad intelectual sobre las variedades y otros genotipos mejorados, requiere de sistemas precisos y rápidos para identificar un cultivar, basados en marcadores moleculares. Con ello se puede regular su comercialización y evitar cualquier mal uso o perjuicio para el obtentor, que muchas veces ha invertido una gran cantidad de años y recursos en su desarrollo. Del mismo modo, y considerando la creciente importancia del área agroindustrial dentro del negocio agrícola, será posible identificar aquellas variedades que reúnan los requerimientos de calidad exigidos por el mercado. Por lo expuesto, es evidente la importancia de la integración de la biotecnología y el fitomejoramiento para suplir las necesidades genéticas derivadas del desarrollo agrícola nacional. Es fundamental fortalecer adecuadamente la experiencia obtenida en el mejoramiento genético en nuestro país con un componente biotecnológico significativo para continuar desarrollando nuevas variedades mejoradas de interés económico y social para Chile. ▲

infección natural en ciertos casos dificulta la selección de individuos resistentes.

- Las estrategias MAS son más económicas que los sistemas analíticos necesarios para ciertos constituyentes vegetales utilizados tradicionalmente, los cuales requieren sofisticado instrumental e infraestructura.

- Sistemas MAS basados en PCR (ver definición en recuadro) presentan un elevado potencial de automatización, lo que debiera incrementar la velocidad analítica y bajar los costos.

En INIA se trabaja en el análisis de segregación molecular en trébol rosado en Carillanca, y de vid, en La Platina, ambos financiados por Fondecyt, que permitirán el futuro desarrollo de mapas genéticos en tales especies. También en Carillanca, un proyecto Fondef financia el mejoramiento molecular para calidad panadera en trigo. Un ejemplo al respecto se presenta en la foto 2 (página 31).

La idea es seleccionar plantas de trigo que posean buena calidad panadera, para lo cual se desarrolló un sistema que permite detectar con gran rapidez y precisión