

Tema 3. Tipos y naturaleza de la variación I: la variación discreta

1. El manejo de genes cualitativos

La variación de un carácter es discreta cuando el fenotipo que expresa un individuo puede ser adscrito sin ambigüedad a una determinada clase. Por ejemplo, el color de los pétalos es púrpura o blanco (siendo lo púrpura perfectamente distinguible de lo blanco, sin estadios intermedios) la posición de las flores es axial o terminal, la superficie de la semilla es lisa o rugosa (siendo lo liso perfectamente distinguible de lo rugoso, sin estadios intermedios), el tamaño de las plantas es normal o enano (siendo la altura de las plantas normales de un orden de magnitud perfectamente distinguible de las enanas a simple vista, sin que se den órdenes de magnitud intermedios), etc. Está claro que estas clases fenotípicas son discretas, perfectamente separables. Estos caracteres se denominan también caracteres cualitativos.

La base genética de los caracteres cualitativos es sencilla, en el sentido de que están gobernados por unos pocos genes, muy frecuentemente uno sólo, de efectos fenotípicos notables y en condiciones normales poco perturbables por el ambiente. El manejo de la variación discreta es también sencillo a la luz de los principios mendelianos. Examinemos algunas técnicas básicas de manejo de la variación discreta que son de uso frecuente en la mejora.

2. Obtención de combinaciones complementarias de genes cualitativos favorables

Lo que se pretende es juntar en un solo genotipo dos o más caracteres favorables, de base genética sencilla, pero dispersos inicialmente en dos o más genotipos. Analicemos en los siguientes ejemplos algunos varios casos sencillos. Es necesario advertir que dichos ejemplos son **ficticios**.

2.1. Obtención de un doble recesivo

En la sandía dos parejas génicas **independientes** intervienen color de la piel y color de la carne. En la primera el alelo N (que determina piel verde clara) domina completamente sobre el alelo n (que determina piel verde oscura). En la segunda el alelo H (que determina carne roja) domina completamente sobre el alelo h (que determina carne amarilla). Una empresa de semillas dispone de dos líneas puras, una de piel verde oscura y carne roja, y otra piel verde clara y carne amarilla. Para sus planes de mejora le interesa disponer de una línea pura de piel verde oscura y carne amarilla. ¿Cómo la obtendría a partir de las dos líneas disponibles?

Para obtener el genotipo nnhh a partir de los genotipos NNhh y nnHH lo primero que habría que hacer es cruzarlos para obtener la F1 de genotipo NnHh. Seguidamente la F1 se sembraría y las plantas F1 se autofecundarían. Obtendríamos una semilla F2 de la que sabemos que 9/16 de sus integrantes son de genotipo N--H--(de piel verde clara y carne roja), 3/16 lo son de genotipo N--hh (de piel verde clara y carne amarilla), 3/16 lo son nnH-- (de piel verde oscura y carne roja) y 1/16 son nnhh (de piel verde oscura y carne amarilla). Este último grupo tiene el genotipo que proporciona el fenotipo buscado. Lo único que habría que hacer es identificarlas y autofecundarlas para obtener la línea pura buscada.

La identificación tendría que basarse en el examen de los frutos maduros, cuando la floración ya ha tenido lugar, y no tendríamos más remedio que autofecundar todas las plantas de la F2 y luego quedarnos solamente con las semillas de autofecundación de las plantas de piel verde oscura u carne amarilla. Dichas plantas sabemos que son de genotipo nnhh, y por tanto sus descendencias de autofecundación también son de genotipo nnhh.

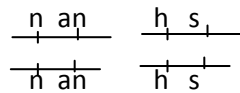
Podríamos hacernos la siguiente pregunta: ¿Cuanta semilla F2 se debería sembrar para tener una seguridad del 99% de que al menos un de ellas es nnhh? La respuesta es

$$N > \log(1-p) / \log(1-t) = \log(1-0,99) / \log[1-(1/16)] = 71,42$$

Si dispusiéramos de marcadores genéticos de los genes *n* y *h* que se expresaran antes de la antesis floral, podríamos entonces identificar las plantas de genotipo nnhh antes de la floración, y solo sería necesario autofecundar estas plantas, evitando así tener que hacerlo con toda la población F2. Por ejemplo, supongamos que el locus *N/n* está estrechamente ligado a otro locus *An/an*, en el *An>an*, y *An* cuando se expresa produce antocianina en la base de los tallos ya en el semillero mientras que la expresión de *an* conlleva la ausencia de pigmentos antocianínicos. Supongamos también que el locus *H/h* está estrechamente ligado a otro locus *S/s*, en el *S>s*, y *S* cuando se expresa produce una alta susceptibilidad a los espolvoreos con azufre en semillero, mientras que la expresión de *s* supone tolerancia a dichos espolvoreos. Supongamos además que en las líneas puras de partida (NNhh y nnHH) ambos ligamientos lo son en fase de acoplamiento (NNAnAnhhss y nnananHHSS).



Bajo estos supuestos sería fácil identificar en semillero que plantas F₂ son de genotipo nnhh. Para ello espolvorearíamos el semillero con azufre. Aquellas plantas que además de ser tolerantes al espolvoreo, no mostraran pigmentos rojizos en la base de sus tallos serían en su mayoría de genotipo nnhh. Sólo estas plantas se autofecundarían posteriormente para obtener la definitiva semilla F3 nnhh buscada.



Ahora bien, algunas las plantas tolerantes al espolvoreo y sin pigmentos podrían no ser de genotipo nnhh, debido a la posible recombinación por entrecruzamiento entre genes marcadores y genes marcados. Por tanto, aunque solo autofecundemos las plantas tolerantes al azufre y sin pigmentos, a la hora de recoger la semilla de autofecundación de las mismas deberemos comprobar que sus frutos del fenotipo buscado, rechazando la semilla de las que no lo son. Cuanto menor sea el valor de la fracción de recombinación entre los genes y sus marcadores menor será la fracción de plantas F2 que siendo tolerantes al espolvoreo y sin pigmentos no son de genotipo nnhh. Por ejemplo, si la fracción de recombinación entre *N/n* y *An/an* vale 0,03, y la de entre *S/s* y *H/h* vale 0,05, aproximadamente el 87% de las plantas anan ss son realmente de genotipo nnhh. El 13% restante no.

Resumiendo, si disponemos de estos marcadores, pondremos la F2 en semillero, y una vez germinadas las plantas eliminaremos las que tengan pigmentos, espolvorearemos luego con azufre y sólo trasplantaremos las tolerantes. Estas plantas trasplantadas (tolerantes y sin pigmentos) las autofecundaremos todas, pero solo cogemos semilla de las que realmente muestren frutos maduros de piel verde oscura y pulpa amarilla, ya que sabemos que una fracción de las mismas (en nuestro ejemplo 13,53%) no son nnhh.

Los genes *an* y *s*, son marcadores genéticos de *n* y *h* respectivamente, ya que actúan como *chivatos* que ponen de manifiesto la presencia de *n* y *h* cuando estos no se expresan (en el semillero).

2.2. Obtención de un doble dominante

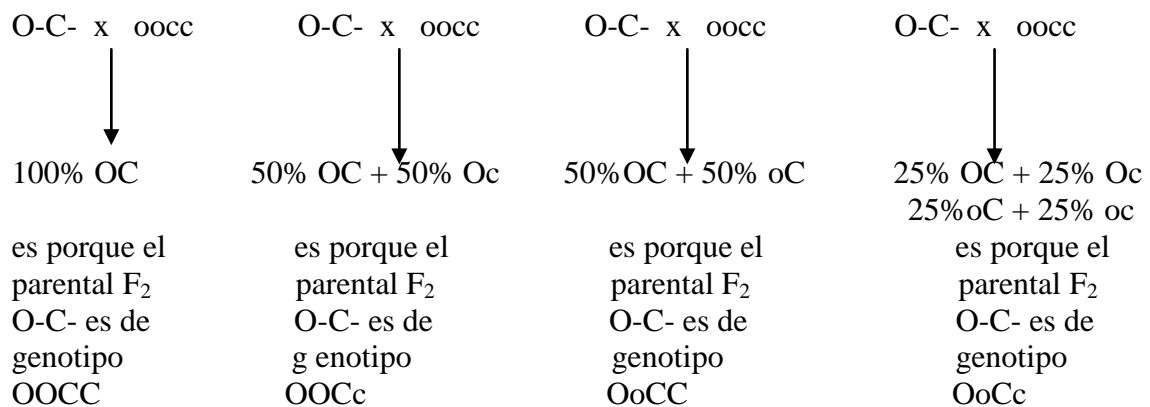
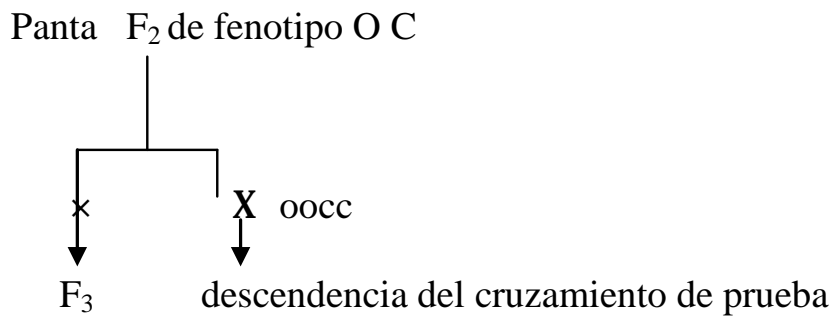
En el melón la resistencia al oídio está determinada por un gen dominante (genotipos OO y Oo resistentes y oo susceptible) y la resistencia al virus del CMV también (genotipos CC y Cc resistentes y cc susceptible). Ambos genes son independientes. Una empresa de semillas dispone de dos líneas puras, una resistente al oídio pero susceptible al CMV y otra susceptible al oídio y resistente al CMV. Para sus planes de mejora le interesa disponer de una línea resistente a ambos patógenos. ¿cómo podría obtenerla a partir de las dos líneas disponibles? Téngase en cuenta que el fenotipo de la resistencia a ambos patógenos puede observarse en el estado de plántula, mediante las correspondientes inoculaciones artificiales en semillero.

Se trata de obtener el genotipo OOCC a partir de OOcc y ooCC. Para ello cruzaríamos los materiales de partida para obtener la F₁ doble heterocigota. Ésta se sembraría y se autofecundaría para derivar de ella la correspondiente F₂. En la F₂ esperamos, por las leyes de Mendel, que 9/16 de sus integrantes son de genotipo O--C-- (resistentes a ambos patógenos), 3/16 lo son de genotipo O--cc (resistentes al oídio pero no al CMV), 3/16 lo son ooC-- (resistentes al CMV pero no al oídio) y 1/16 son oocc (susceptibles a ambos patógenos). Estas cuatro clases fenotípicas son distinguibles en semillero, inoculando los correspondientes patógenos, y comprobando la respuesta de cada planta a dicha inoculación. Aquellas plantitas que se expresaran como resistentes a ambos patógenos serían las que debemos seleccionar. Pero de ellas solo sabemos que son portadoras de al menos un alelo O y de al menos un alelo C pero desconocemos su genotipo, ya que éste puede ser OOCC, OcCC, OOcc o incluso OoCc. Sin embargo el único que nos interesa es OOCC, el cual no se distingue de los otros tres, ya que presenta el mismo fenotipo que ellos. ¿Cómo procederíamos entonces para aislar el genotipo OOCC? Del siguiente modo:

Una vez seleccionadas en semillero las plantas resistentes a ambos patógenos (O--C--) se trasplantarían para su cultivo y cuando florecieran de cada una de ellas se obtendrían dos descendencias, una de autofecundación y la otra de cruzamiento de prueba, esto es, cruzando con el genotipo doble homocigoto recesivo (oocc). La semilla de autofecundación de cada planta se guardaría debidamente registrada. La semilla de cada planta procedente del cruzamiento de prueba se sembraría en parcelas individuales (una parcela por familia; por familia se entiende la descendencia de un individuo). Aquellas familias de prueba que fueran 100% resistentes a ambos patógenos en semillero (una vez inoculadas) lo serían por descender de una planta F₂ OOCC, ya que el cruce OOCC x oocc da lugar a una descendencia 100% OoCc. Por tanto, de las familias de autofecundación F₃ guardadas, sólo las procedentes de plantas cuya descendencia de prueba haya sido 100% resistente a ambos patógenos estarán constituidas por individuos con el genotipo buscado OOCC.

OO cc
Oo CC → OOCC

OOcc x ooCC
↓
F₁ OoCc
↓
F₂
9 OC : 3 Oc : 3 oC : 1 oc



2.3 Obtención de un doble homocigoto dominante recesivo

Las variedades comerciales de judía verde pueden tener vaina verde (genotipos VV o Vv) o amarilla (genotipo vv). La sección de la vaina puede ser redondeada (genotipos RR y Rr) o plana (genotipo rr). Una empresa de semillas dispone de una línea pura verde y redondeada (VVRR) y de otra amarilla y plana (vvrr). Para sus planes de mejora necesita disponer de una línea pura amarilla y redondeada (vvRR). ¿Cómo podría obtenerla a partir de de las dos líneas disponibles?. Asuma que cuando las vainas se fenotipan la floración ya ha tenido lugar, pero téngase en cuenta en todo caso que la judía es una especie autógama estricta. Resuélvase el supuesto para dos situaciones distintas:

1ª Conocemos la existencia de un gen marcador ligado al locus R/r, que es el que controla el color del grano en la madurez. En el gen marcador si se expresa el alelo M el grano es marrón y si lo hace el alelo m el color es blanco. M es completamente dominante sobre m (M>m). Se sabe que en las líneas disponibles los loci R/r y M/m están ligados en fase de repulsión. La fracción de recombinación es de 0,02.

2ª No conocemos la existencia de ningún gen marcador.

3. El retrocruzamiento

En los casos anteriores se buscaba reunir en un nuevo genotipo una combinación de genes cualitativos concreta, sin importar la configuración del resto de los genes en el mismo, la cual obviamente quedaría alterada con respecto a los materiales parentales iniciales. En la técnica del retrocruzamiento lo que se busca es obtener a partir de dos materiales parentales iniciales, a los cuales denominamos respectivamente recurrente y donante, un nuevo material que incorpore uno o unos pocos genes del donante, pero que mantenga la configuración genética

del recurrente para el resto de los genes. Se trata de una situación muy frecuente en la mejora, que se presenta cuando una determinada variedad (la que llamamos recurrente) es agronómicamente buena desde una perspectiva general pero presenta un defecto puntual, cuya solución genética depende de uno o de unos pocos genes que se encuentran en otro material (al que llamamos donante). Interesa obtener un nuevo material que sea genéticamente lo más parecido posible al recurrente, pero que contenga los genes que procedentes del donante eliminen el defecto puntual del recurrente. Por ejemplo, una variedad R de lechuga puede tener en general unas excelentes cualidades agronómicas pero ser susceptible a una plaga, por ejemplo al pulgón *Nasonovia ribisnigri*. Es posible que otro material de lechuga (D), sin interés comercial, sea portador de un gen que confiere resistencia a Nasonovia. Interesa transferir dicho gen desde D hasta R, es decir obtener un nuevo material R' que sea genéticamente muy similar a R pero con el gen de resistencia procedente de D. Contemplemos dos casos sencillos: 1º cuando el recurrente para un gen concreto es homocigoto recesivo (aa), y esto confiere un defecto concreto, que sería solucionado si cambiamos el gen recesivo (a) por su alternativa dominante (A) presente en el donante (introducción de un gen dominante). 2º cuando el recurrente para un gen concreto es homocigoto dominante (AA), y esto confiere un defecto concreto, que sería solucionado si cambiamos el gen dominante (A) por su alternativa recesiva (a) presente en el donante (introducción de un gen recesivo).

3.1. Introducción de un carácter controlado por un gen dominante

Si llamamos G al fondo genético de la variedad recurrente (R) y G' al de la donante (D), los genotipos de partida serán G aa (de la variedad R) y G'AA (de la variedad D). El genotipo buscado es G AA.

El programa se inicia cruzando los genitores R (como hembra) y D (como macho) para obtener la F₁ que tiene un 50% del fondo genético de R, todo el citoplasma de R, y que es heterocigota para el carácter a introducir:

$$\begin{array}{c} G \text{ aa} \times G' \text{ AA} \\ \downarrow \\ F_1: G50 \text{ Aa} \end{array}$$

Posteriormente se efectuará el primer retrocruce con el parental recurrente con lo que se obtiene la primera generación de retrocruzamiento BC1:

$$\begin{array}{c} F_1 \text{ G50 Aa} \times G100 \text{ aa} \\ \downarrow \\ BC1: G75 (50\% \text{ Aa} + 50\% \text{ aa}) \end{array}$$

Las plantas BC1 tendrán por término medio un 75% del fondo genético de R. Al retrocruzar vamos forzando la eliminación de los genes del parental donante e introduciendo genes de la variedad comercial deseada. Para el locus del gen a introducir, la BC1 obtenida es 50% Aa + 50% aa. Se seleccionaría las plantas Aa, cuyo fenotipo A difiere de de las aa que es a. Estas plantas seleccionadas se retrocruzan de nuevo por e parental recurrente para obtener la 2ª generación de retrocruzamiento, la cual segregará de nuevo en la proporción 50% AA y 50% Aa y por término medio tendrán un 87,5% de fondo genético G de R

$$G_{75} Aa \times G_{100} aa$$

↓

$$BC_2 = G_{87,5} (50\% Aa + 50\% aa)$$

El proceso descrito se repite un número de veces que dependerá del mayor o menor grado de diferencia genética entre recurrente y donante.

En los sucesivos retrocruces el incremento que se produce en el porcentaje de fondo genético G va siendo menor hasta llegar a un momento en que un retrocruzamiento más no supone una mejora del material de interés, ya que será muy poca la nueva incorporación de genoma del parental recurrente. En este momento no se realizan más generaciones de retrocruzamiento.

El producto final obtenido nunca recuperará el 100% del fondo genético de la variedad recurrente comercial. En la práctica no se realizan más de cuatro generaciones de retrocruzamiento. En la figura 1 podemos observar el incremento en la incorporación de genoma de parental recurrente en función del número de retrocruce realizados.

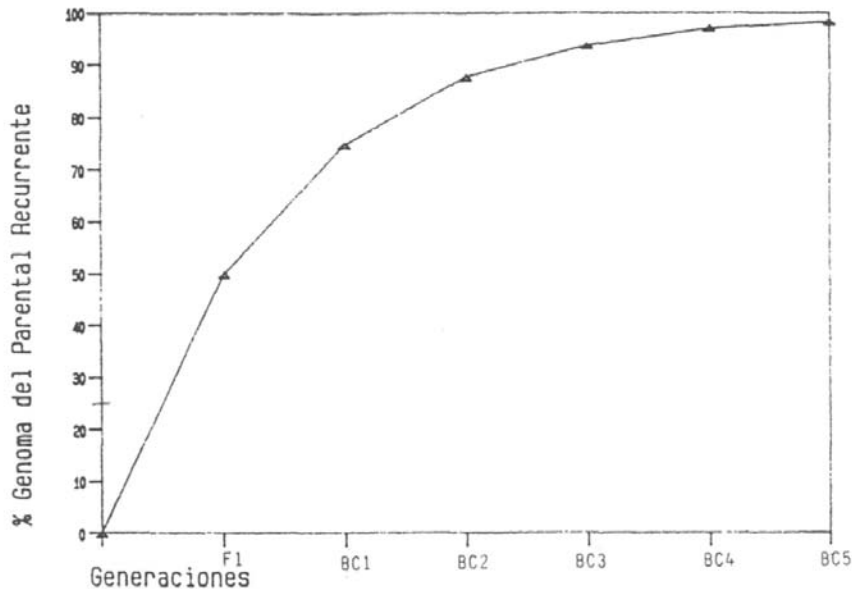


Figura 1. Incorporación sucesiva de genoma del parental recurrente a lo largo del proceso de retrocruzamientos sucesivos.

Como resultado de toda la serie de retrocruzamiento obtendremos plantas que serán con fenotipo similar a parental donante para el carácter que se desea introducir, pero de genotipo heterocigoto, y similares al parental recurrente para el resto de caracteres. A partir de estas plantas se obtiene una generación de autofecundación. Estas plantas al ser de genotipo Aa segregarán del siguiente modo:

$$BC_n = G_{\sim 100} (25\% AA + 50\% Aa + 25\% aa)$$

De los descendientes de la generación de autofecundación (Bcn) se seleccionarán aquellos que muestren el carácter buscado. Estas serán de genotipo AA o Aa. Para poder distinguir los homocigotos de los heterocigotos para el carácter es necesario realizar un cruzamiento prueba con el parental recurrente y estudiar la descendencia de cada planta. Aquellas descendencias que no muestren segregaciones para el carácter son las que provienen de un genotipo homocigoto, que es el buscado. Las descendencias de autofecundación de

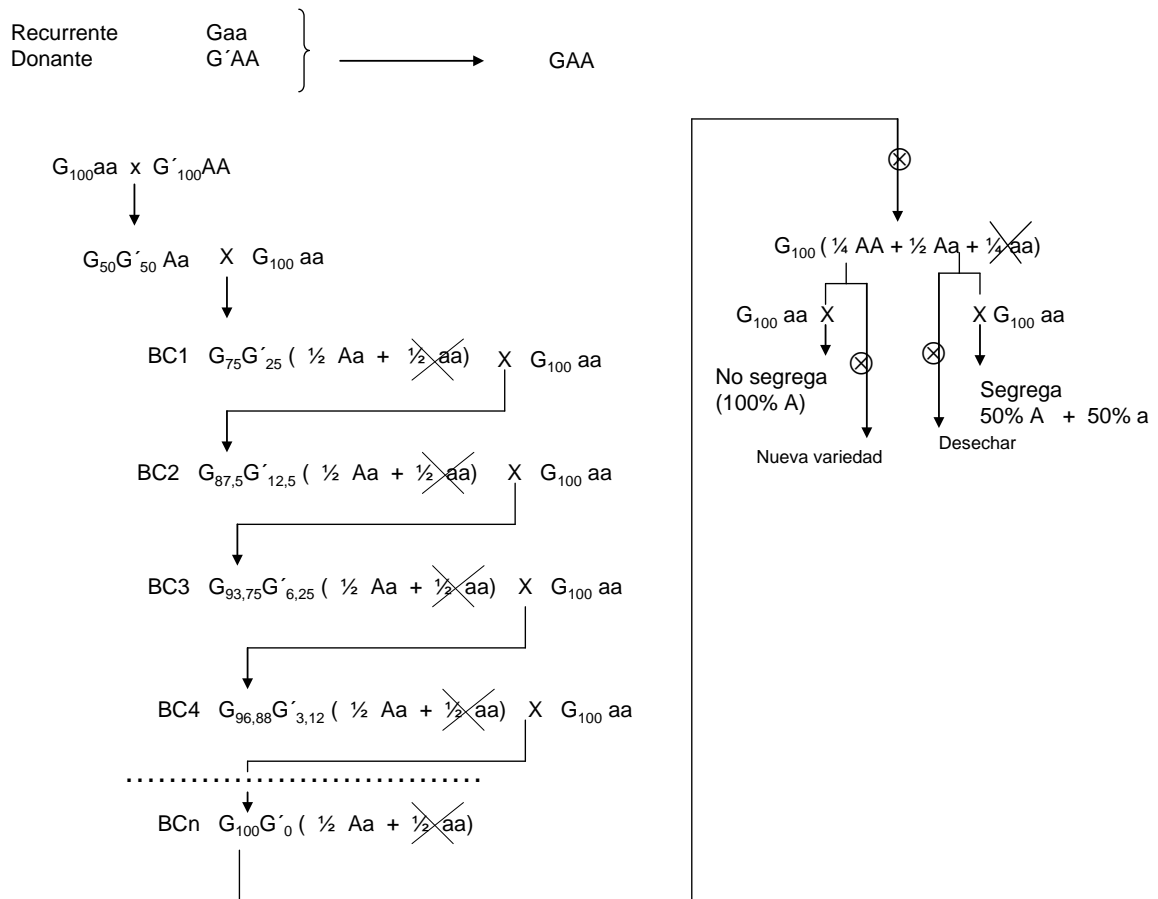
estas plantas (autofecundación realizada a la vez que el cruzamiento de prueba) serán genotipo homocigoto buscado y de fondo muy similar al G de R.

En cualquier caso, con las descendencias homocigotas obtenidas se llevan a cabo ensayos comparativos en los que el testigo será obviamente el parental recurrente. De este modo, podemos identificar aquellos genotipos que habiendo incorporado el carácter deseado posean caracteres agronómicos más similares a la variedad comercial.

La selección en las descendencias de los retrocruzamientos a lo largo de todo el programa en contra de aquellas plantas que no muestren caracteres de interés agronómico similares a los de la variedad comercial, aunque no es necesaria, permite acelerar el programa.

Así mismo, la realización de varios ciclos en un mismo año, en los casos en que esto sea posible, permitirá conseguir el objetivo deseado con mayor rapidez.

El tamaño muestral dependerá de la estructura de las poblaciones. En el caso de una alógama con gran variación intrapoblacional será necesario un mayor número de plantas que en el caso de una autógena muy seleccionada.



3.2. Introducción de un carácter controlado por un gen recesivo

Los genotipos de partida serán $G AA$ (de la variedad R) y $G'aa$ (de la variedad D). El genotipo buscado es $G aa$.

El programa se inicia cruzando los genitores R y D para obtener una F_1 que tendrá un 50% del fondo genético de R y que es heterocigota para el carácter a introducir:

GAA × G'aa



F₁: G₅₀ Aa

A partir de aquí efectuamos el primer retrocruce con el parental recurrente.

G₅₀ Aa × G AA



BC₁: G₇₅ (50% AA + 50% Aa)

En una segunda generación de retrocruzamiento deberíamos cruzar las plantas de la generación BC₁, de genotipo Aa, por el genitor recurrente. Ahora bien, todos los genotipos son de fenotipo A y por tanto indistinguibles. No podemos seleccionar en contra del genotipo AA.

Al no poder distinguir genotipos será necesario adoptar una de las dos estrategias que a continuación se describen:

3.2.1. Retrocruzamiento y autofecundaciones sucesivas

Se procede a la autofecundación de las plantas de las generaciones BC₁, que segregarán tal y como se describe:

G₇₅ (50%AA + 50% Aa)



G₇₅ (12,5%aa + 25% Aa + 62,5 % AA)

Solamente un 12,5% de las plantas mostrará el fenotipo "a". En comparación con el método anterior será necesario un aumento del tamaño muestral para observar el carácter.

Tras seleccionar las plantas de genotipo aa, obtenemos la segunda generación de retrocruzamiento:

G₇₅aa × GAA



BC₂: G_{87,5} Aa

A continuación se procede al retrocruzamiento de las plantas de la generación BC₂ por el genitor recurrente para obtener la BC₃.

G_{87,5} Aa × G AA

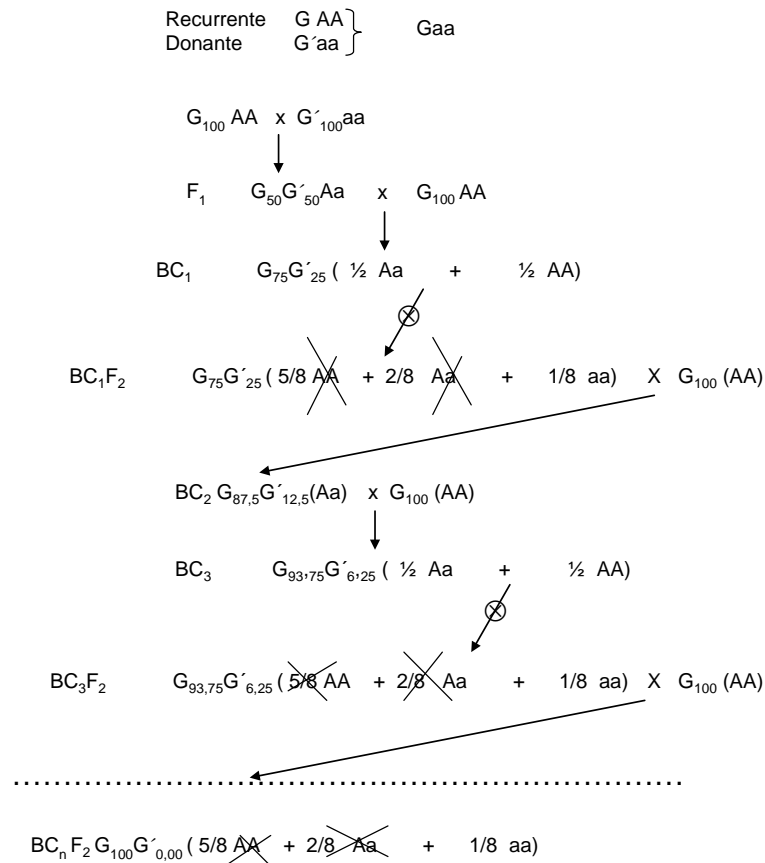


BC₃: G_{93,75} (50% AA + 50% Aa)

El proceso de autofecundación y retrocruzamiento sucesivos puede continuarse, siendo más o menos largo, en función de las diferencias genéticas entre el parental donante y recurrente.

Normalmente se suele llegar a la cuarta generación de retrocruzamiento.

Llegado el momento en que no se desean iniciar más ciclos de retrocruzamiento se autofecundarán las plantas. En función de que nos encontremos en una generación con un único genotipo Aa, o en una con los genotipos Aa y AA como resultado de la autofecundación obtendremos un 25% o un 12% de plantas con el carácter buscado.



Tras seleccionar las plantas que hayan incorporado el gen aa en homocigosis se realizarán una serie de ensayos comparativos, en que el testigo será el genitor recurrente, a partir de los cuales podremos identificar aquellas que tengan caracteres agronómicos más similares a la variedad comercial.

Este manejo tiene 2 desventajas: alarga el proceso de incorporación de genes recesivos en relación con el proceso paralelo para genes dominantes y es necesario manejar mayores tamaños muestrales.

Para evitar el retraso que ocasiona el empleo de este método podemos proceder de un modo alternativo.

3.2.2. Retrocruzamiento y autofecundaciones simultáneas.

El inicio del programa es similar al anteriormente descrito hasta la obtención de la BC_1 : $G_{75}(50\%AA + 50\%Aa)$

A partir de la generación BC_1 se individualizan las plantas y a partir de cada una de ellas obtenemos 2 tipos de descendencia:

- Por autofecundación.
- Por retrocruzamiento con el parental recurrente.

A continuación se sembrarán semillas de los 2 tipos de descendencias simultáneamente y en función de que en la descendencia procedente de la autofecundación de una planta encontremos o no segregación, dejaremos o eliminaremos del campo la descendencia procedente del retrocruzamiento.

A partir de que las plantas no han sido eliminadas vuelven a obtenerse los 2 tipos de descendencia reiniciándose un nuevo ciclo de retrocruzamiento y autofecundaciones simultáneas.

El proceso continuará hasta una generación en que las plantas, excepto para el carácter que se desee introducir, sean muy similares a la variedad comercial. En este momento se obtiene la descendencia procedente de autofecundación donde un 12,5% de las plantas llevarán el alelo recesivo que deseamos incorporar en homocigosis.

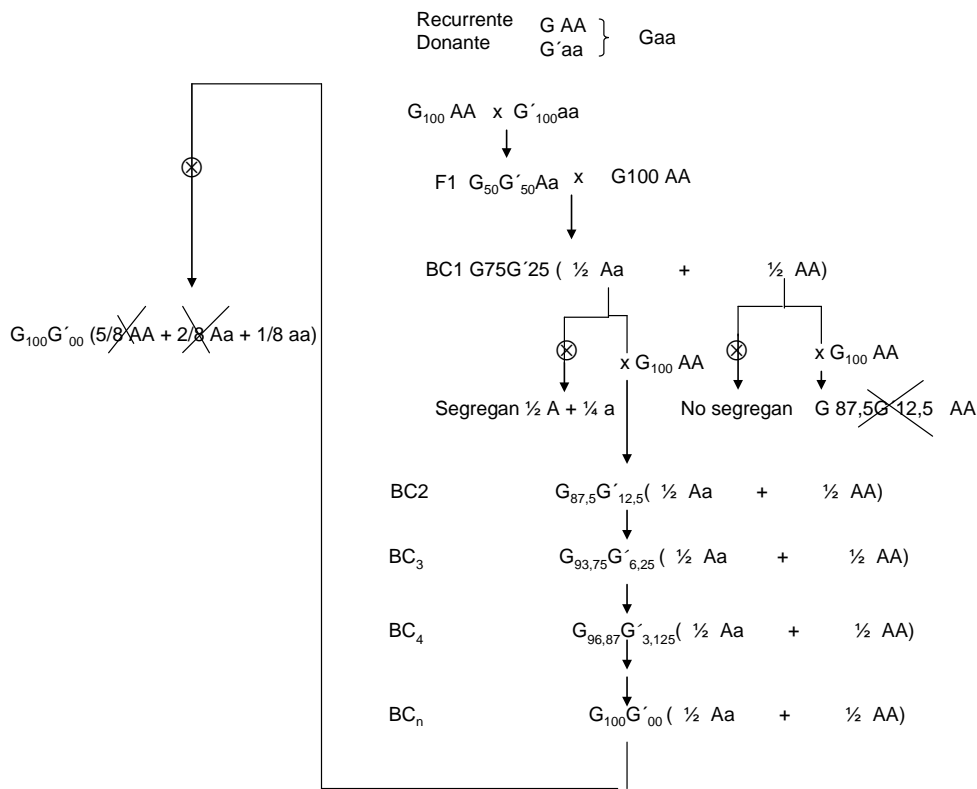
A partir de estas plantas, y como en el caso anterior, realizamos una serie de ensayos para identificar aquellas líneas con mejores caracteres agronómicos.

Este método presenta las ventajas de que se acorta considerablemente el proceso en relación con el anteriormente descrito.

No obstante, se duplica el espacio y el trabajo necesario para llevar a cabo el cultivo y realizar los cruzamientos y autofecundaciones simultáneamente.

Una variante del método es utilizar como cruzamiento prueba para identificar el genotipo heterocigoto el cruce con el parental donante, aa, en lugar de la autofecundación descrita.

Es necesario un menor número de plantas para observar la segregación del genotipo aa. No obstante, implica hacer el doble de polinizaciones artificiales.



Obviamente, en todos los programas de retrocruzamiento, cuando la autofecundación es requerida, habrá que tener en cuenta el sistema reproductivo de la especie en cuestión. Si la especie es autógama estricta, para autofecundar no es necesario realizar manipulación alguna, ya que las plantas se autofecundan por sí solas espontáneamente. Si es alógama estricta es necesario realizar artificialmente las autofecundaciones. Si es alogama parcial pero preferentemente autógama, o en cualquier caso, con una tasa de autogamia suficientemente alta para asegurar el necesario suministro de semilla de autofecundación, con embolsar las flores antes de la antesis es suficiente.

Bibliografía:

PRINCIPIOS DE LA MEJORA GENÉTICA DE PLANTAS.

Allard, R.W.

Omega. Barcelona. 1967.

Capítulos 14

MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LAS COSECHAS

Poehlman, J. M., Sleper, D. A.

Editorial Limusa. Mexico. 2003

Capítulo 3 y 9

INTRODUCCIÓN A LA MEJORA GENÉTICA DE PLANTAS

Cubero, J.I.

Mundi-Prensa. Madrid. 2003.

Capítulo 7