

Biotecnología

Mejoramiento Genético de Hortalizas

● Ing. Agr.
Elsa L. Camadro
INTA-FCA, UNMdP
INTA Balcarce, Buenos Aires

Las biotecnologías modernas, que abarcan desde la manipulación de protoplastos, células y tejidos in vitro hasta la manipulación directa del material hereditario (ADN), ofrecen al fitomejorador herramientas adicionales para aumentar la eficiencia y la eficacia de su labor, pero la conveniencia de su aplicación debe ser evaluada en cada caso particular

● Los cultivares actuales son el resultado del mejoramiento genético convencional que el hombre ha venido realizando durante siglos a través de ciclos de selección y cruza-mientos. En sus comienzos, el mejoramiento genético fue un arte, pero a fines del siglo XIX se transformó en una tecnología de base científica con el descubrimiento de los principios de la genética y de la citogenética.

El mejoramiento genético es un proceso lento y generalmente laborioso; sus avances dependen de la variabilidad genética (heredable) que el fitomejorador tiene a su disposición para llevar adelante el trabajo. El tiempo necesario para introducir un gen determinado en un cultivo depende de la fuente de ese gen y de la distancia evolutiva de la misma con respecto al cultivo. El proceso puede tomar entre 5 y 10 años cuando el gen de interés se encuentra en otros individuos de la misma especie y entre 10 y 15 años, o más, cuando la fuente del gen es el germoplasma emparentado (silvestre o cultivado). Pero la transferencia de genes puede verse dificultada o impedida por la acción de barreras a la hibridación que pueden prevenir la fecundación, por incompatibilidad entre el polen de una especie y el pistilo de la otra, o la formación de semillas una vez que ha ocurrido la fecundación, debido al aborto del embrión, del endosperma (tejido de nutrición) o de ambos tejidos.

Cuando se obtienen híbridos entre una

especie cultivada y sus especies silvestres emparentadas, no sólo se introducen las características de interés sino que también pueden introducirse otras características indeseables, desde el punto de vista agronómico, que tienen que ser eliminadas a través de sucesivos pasos del mejoramiento genético y que, en algunos casos, pueden estar negativamente relacionadas con alguna característica valiosa. Por eso se pensó que las mutaciones (cambios en el material genético o ADN) inducidas por la aplicación de agentes físicos (como rayos X y rayos gamma) o químicos (como gas mostaza y ácido nitroso) podrían ser una fuente importante de variabilidad genética cuando se quieren introducir caracteres específicos (por ej., resistencia a enfermedades o contenido de determinado nutriente) en cultivares adaptados, sin que se altere el genotipo. Sin embargo, los resultados que se obtienen con la aplicación de esta técnica son aleatorios ya que no se sabe qué genes van a cambiar ni en qué dirección lo harán.

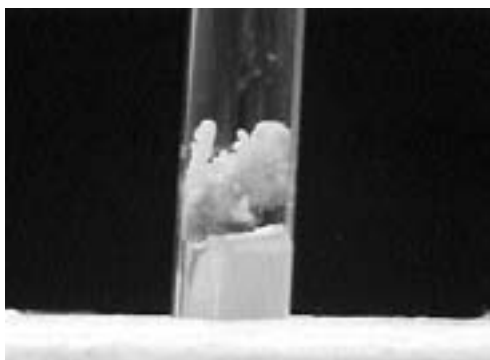
Por eso, hasta hace muy poco tiempo, el trabajo del fitomejorador estuvo limitado por la compatibilidad sexual entre las especies. Pero, en algunos casos, los genes de interés no se encuentran en el germoplasma cultivado ni en el germoplasma emparentado, sino que están presentes en otras especies o géneros no emparentados con la especie cultivada o, incluso, que pertenecen a otros reinos de la naturaleza (genes que controlan

resistencia a bajas temperaturas en peces o producción de sustancias insecticidas en bacterias, entre otros). En los últimos 15-20 años se han desarrollado técnicas conocidas como “del ADN recombinante” o “ingeniería genética”, mediante las cuales se puede “cortar” la molécula de ADN con enzimas (que actúan como “tijeras” biológicas) en sitios específicos y recombinar los fragmentos obtenidos para producir moléculas con combinaciones de genes que no se encuentran en la naturaleza. La utilización de estas técnicas permitiría ampliar en gran medida las fuentes de variabilidad genética disponibles para el fitomejorador, de modo que estas pueden constituirse en herramientas adicionales para aumentar la eficiencia y la eficacia de su labor.

Si bien comúnmente se asocia el término “biotecnología” a la ingeniería genética, el significado es mucho más amplio. Las biotecnologías modernas abarcan desde la manipulación de protoplastos (células sin pared celular), células y tejidos *in vitro* hasta la manipulación directa del ADN, e incluyen:

- *Micropropagación* a partir de diferentes explantos (yemas, ápices, segmentos de hoja, de raíces u otros tejidos) cultivados *in vitro*. El objetivo es la obtención de copias idénticas (clones) de genotipos selectos, en gran escala, en espacios reducidos y a bajo costo, que pueden comercializarse directa-

mente (por ej., ajo, papa, espárrago) o utilizarse como progenitores para la producción de semilla híbrida (por ej., apio, espárrago, zanahoria). Mediante el cultivo de meristemas, que son regiones de activo crecimiento de los ápices, se obtienen plantas libres de virus o de sanidad controlada, según se les aplique o no algún tratamiento adicional, por ej. en papa y ajo. Según la especie, a partir del explanto se pueden originar plántulas completas por organogénesis directa (por ej., en papa y tomate) o el explanto tiene que pasar por una etapa de proliferación de tejido no diferenciado, denominado callo (Fig. 1), antes de que se pueda inducir la regeneración de raíces y tallos para la producción de plántulas completas (Fig. 2). Cuando la organogénesis es directa, las plántulas producidas son copias (clones) del genotipo original. Sin embargo, cuando el cultivo pasa por la fase de callo pueden aparecer cambios heredables no predecibles, conocidos como *variación somaclonal*. Una forma de evitar este problema cuando lo que se desea es clonar un genotipo, es producir embriones somáticos a partir de los explantos *in vitro*; estos embriones se comportan como los embriones cigóticos de las semillas (que son productos de la reproducción sexual), y pueden utilizarse, además, para la producción de semilla sintética cuando se los recubre con las sustancias apropiadas. Por el contrario, si el objetivo es generar variabilidad genética o seleccionar la variabilidad pre-existente que no se había manifestado fenotípicamente,



● Fig. 1. Tejido indiferenciado (callo) de espárrago



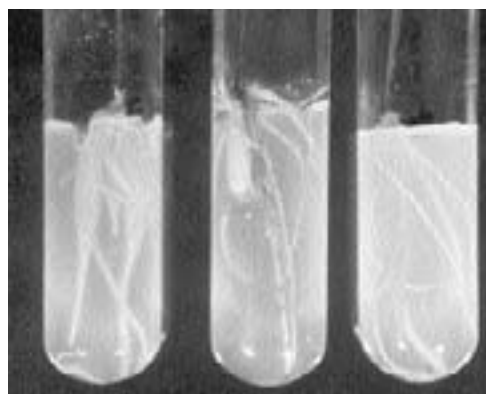
● Fig. 2. Tallos y raíces regenerados a partir de callo de espárrago

entonces deben manipularse las condiciones del cultivo para la proliferación de callo y, a partir de este, inducir la regeneración de plantas completas.

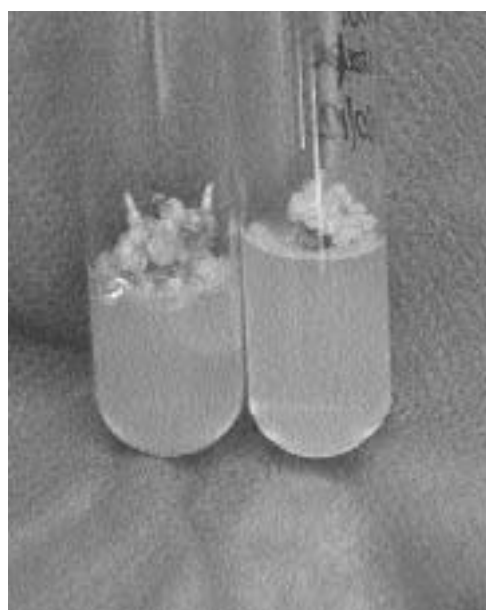
Selección in vitro frente a agentes bióticos o abióticos adversos. Puede realizarse en plántulas o en callos cultivados en un medio artificial al que se le incorporan agentes selectivos; por ej, esporas o toxinas de *Fusarium* en espárrago (Figs. 3 y 4) y tomate; aluminio, sales, herbicidas y otros compuestos en tomate. Cuando se cultivan plántulas en el medio selectivo, se selecciona la variación genética pre-existente en esos materiales, mientras que en el cultivo de callo (que es un tejido desorganizado en el que las células se multiplican muy rápidamente) se puede generar variación somaclonal dirigida según al agente selectivo utilizado; dicha variación puede seleccionarse en el mismo callo o en las plantas que a partir de este, se regeneren a partir de este (Fig. 5). Estas técnicas son de gran utilidad en el mejoramiento genético sólo si los resultados que se obtienen *in vitro* se mantienen cuando los materiales selectos se cultivan en condiciones de campo.

Cultivo de ovarios, óvulos, anteras y microsporas para la producción de haploides (plantas con el número cromosómico de las células sexuales); por ej. en papa, espárrago, tomate, crucíferas. Por duplicación del número de cromosomas, los haploides pueden originar líneas puras en un solo paso, en contraste con el método convencional de autofecundación para el cual se requieren varias generaciones. En especies poliploides (con más de dos juegos de cromosomas), los haploides permiten realizar las evaluaciones con un número considerablemente menor de plantas, debido a que tienen proporciones genéticas más sencillas que los poliploides, y realizar cruza-mientos entre especies con distinto número de cromosomas sin que surjan problemas en el desarrollo del endosperma (por ej., en papa).

Cultivo de óvulos fecundados u ovarios y de



● Fig. 3. Plántulas de espárrago cultivadas en medio con esporas de *Fusarium* ssp. (izq.: planta sana, centro y der.: plantas con distinta proporción de tejido de la raíz con síntomas de la enfermedad, podredumbre de raíces y coronas)



● Fig. 4. Callos de espárrago cultivados en medio con toxinas de *Fusarium* spp (izq.: callo de buen comportamiento, der.: callo susceptible)



● Fig. 5. Plántulas sin síntomas de la podredumbre de raíces y coronas regeneradas a partir de callos selectos en medio con toxina de *Fusarium* ssp.

embriones para el rescate de embriones: de cruzamientos interespecíficos (o intergenéricos) que presentan problemas en el desarrollo del endosperma, por ej. en papa, espárrago y tomate, y para acelerar generaciones, ya que dichos embriones no presentan dormición como los embriones de las semillas, de modo que se pueden obtener varias generaciones en un mismo año.

Cultivo de protoplastos para la sustitución de citoplasma entre líneas con el objeto de transformar líneas androfértiles en androestériles, en un solo paso, para la producción de híbridos

Cultivo y fusión de protoplastos para la producción de híbridos interespecíficos e intergenéricos; por ej. entre especies silvestres de papa y de tomate con las especies cultivadas.

Manipulación directa del ADN por técnicas de ingeniería genética para:

1) *transferencia de genes* (transgénesis) que

controlan la resistencia o tolerancia a plagas y enfermedades, a herbicidas, a heladas, a sequía, el contenido y tipo de determinadas sustancias asociadas con la calidad, como almidón o vitaminas, entre otros caracteres de interés agronómico, culinario e industrial, a cultivares adaptados que mantienen el fenotipo característico; por ej., en ajo, apio, cebolla, crucíferas, espárrago, papa, perejil, poroto, tomate, zanahoria. La transgénesis puede hacerse entre especies que inclusive pueden pertenecer a distintos reinos de la naturaleza (por ej., resistencia a heladas en papa controlada por un gen de un salmónido);

2) *caracterización de germoplasma* por patrones electroforéticos (equivalentes a impresiones digitales, para identificar especies y cultivares);

3) *estimación de la diversidad genética* para planificar estrategias del mejoramiento;

4) *construcción de mapas genéticos* para mar-

cadores moleculares y de ligamiento con caracteres de interés agronómico, para realizar selección en el laboratorio asistida por dichos marcadores.

La elección de los progenitores y de las estrategias del mejoramiento genético son de fundamental importancia para alcanzar el objetivo final de obtención de cultivares en el menor tiempo y con el menor costo posible. Por eso, antes de aplicar las técnicas descritas hay que considerar las ventajas, desventajas y limitaciones que pueden tener para cada caso en particular. Por ejemplo, distintas especies pueden presentar también distintas respuestas a las manipulaciones *in vitro*, ya que algunas responden muy fácilmente (por ej. zanahoria, papa) y otras son "recalcitrantes", o sea que no se pueden manipular *in vitro* o la manipulación tiene un grado alto de complejidad (por ej. espárrago); incluso dentro de una misma especie, distintos genotipos pueden presentar distintos comportamientos ante una técnica debido a la interacción con el ambiente interno o externo (estado fisiológico de la planta donante de explantos, condiciones del cultivo *in vitro* como luz, temperatura, humedad, pre-tratamientos, composición del medio del cultivo, entre los más importantes) o una especie puede responder muy bien a un tipo de manipulación o a una etapa de una técnica y ser recalcitrante ante otra manipulación u otra etapa de la misma técnica (por ej., en tomate, micropropagación en comparación con producción de

haploides por cultivo de anteras; en la micropropagación de espárrago, iniciación y multiplicación en comparación con enraizamiento).

Por otro lado, la manipulación directa del ADN permite detectar variabilidad genética (polimorfismos) a nivel de genotipo, evitando las complicaciones que surgen cuando el análisis genético se basa en el fenotipo, porque el ambiente, entre otros factores, puede afectar la expresión de un carácter. También permite sortear los límites impuestos por la reproducción sexual de modo que es posible transferir a las plantas genes de especies que incluso pueden pertenecer a otros reinos de la naturaleza. Sin embargo, algunas de las técnicas de manipulación del ADN son laboriosas, insumen mucho tiempo y para aplicarlas se requiere de instalaciones y equipos de cierta complejidad; en contraste, algunas otras técnicas que son más sencillas, tienen baja repetitividad, de modo que los resultados no son confiables.

El fitomejorador debe contar con la infraestructura y el equipamiento adecuados para su aplicación de biotecnologías y evaluar si los costos y los tiempos que insumen justifican la aplicación cuando se dispone de métodos alternativos para alcanzar los mismos objetivos. No hay que olvidar que las biotecnologías son simplemente herramientas de trabajo, aunque algunas de ellas sean muy poderosas. ●

Bibliografía

- Camadro, E.L. 2000. Cultivos transgénicos: soluciones...¿o problemas? *Nexos* 12: 10-13.
 Evans, D.A., Sharp, W.R., Ammirato, P.V. (eds.). 1986. *Handbook of Plant Cell Culture*. Mac Millan Publishing Co. New York.
 Staub J.E., Serquen F.C., Gupta M. 1996. Genetic markers, map construction and their application in plant breeding. *HortScience* 31: 729-741