

# Marcadores Moleculares en Maíz

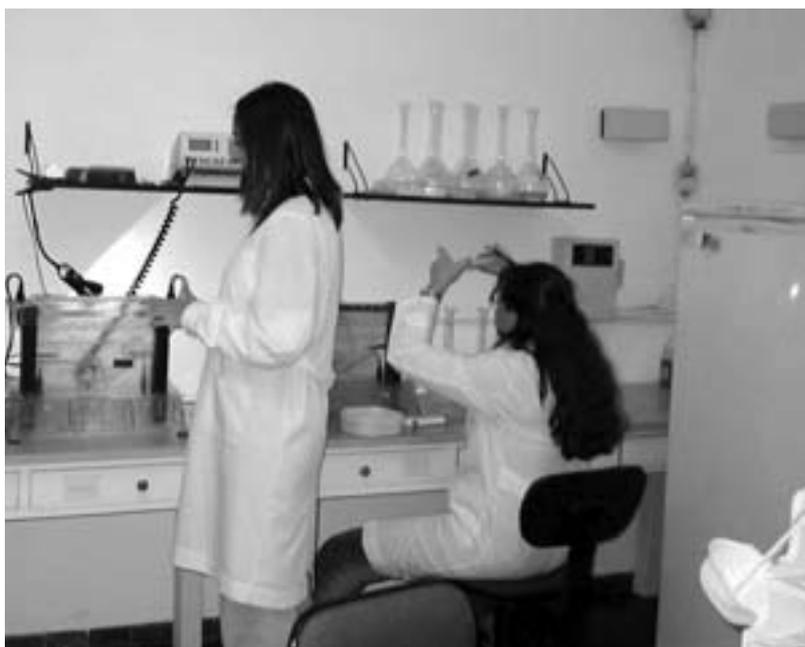
*El mejoramiento tradicional de maíz cuenta hoy con técnicas moleculares que posibilitan una mayor eficiencia en la selección de caracteres de interés agronómico, desarrollo y caracterización de germoplasma. En los últimos años, el Programa de Mejoramiento de Maíz de la Estación Experimental Agropecuaria Pergamino del INTA está utilizando estas técnicas moleculares para la identificación de marcadores aplicables al mejoramiento asistido y la caracterización molecular de germoplasma de maíz*

- Ings. Agrs. Ana Rosa Schlatter, Guillermo Eyherávide, Daniel Presello, María del Pilar Álvarez, Lic. Leonardo Ornella, Biól. Juliana Iglesias INTA Pergamino, Buenos Aires

- Las técnicas de marcadores moleculares permiten evaluar la variabilidad genética a nivel del ADN. Estos marcadores presentan ciertas ventajas respecto a otros marcadores genéticos: son abundantes y están uniformemente distribuidos en el genoma, no están afectados por el ambiente y se pueden detectar en cualquier estado de desarrollo de la planta.

Los marcadores microsatélites o SSR (*Simple Sequence Repeats*) consisten en pequeñas secuencias de 2 a 5 pares de

bases repetidas en tandem y flanqueadas por regiones conservadas. Estas regiones pueden ser amplificadas mediante la técnica de PCR (*Polimerase Chain Reaction*) que utiliza secuencias específicas que reconocen a las regiones flanqueantes. Los SSR tienen expresión co-dominante y son multialélicos, por lo que poseen el más elevado nivel de polimorfismo. Otra ventaja de los SSR es que son muy frecuentes y están distribuidos al azar en todo el genoma, siendo su ubicación cromosómica conocida (maize databank).



- Figura 1: Laboratorio de Marcadores Moleculares- EEA Pergamino

La Estación Experimental Agropecuaria Pergamino del INTA cuenta con un Laboratorio de Marcadores Moleculares dependiente del Grupo de Trabajo de Mejoramiento de Maíz. Este laboratorio inició sus actividades a principios del año 2000 y tiene como objetivo fundamental la aplicación de marcadores moleculares (especialmente microsatélites) al mejoramiento genético de maíz (fig. 1).

En el INTA Pergamino, el empleo de este tipo de técnicas para el mejoramiento de maíz se centra principalmente en la incorporación de genes de interés agronómico mediante programas de retrocruza asistidos por marcadores o MAS (*Marker Assisted Selection*), y en la caracterización molecular del germoplasma de maíz.

#### IDENTIFICACIÓN DE MARCADORES MICROSATÉLITES APLICABLES AL MEJORAMIENTO ASISTIDO

##### *Resistencia genética al virus del Mal de Río Cuarto*

El Mal de Río IV es una de las enfermedades más importantes del cultivo de maíz en la Argentina, cuyo agente causal es un fijivirus de la familia Reoviridae. La siembra de cultivares con resistencia genética es la forma más eficiente de controlar esta enfermedad. La identificación de marcadores moleculares ligados a genes de resistencia con amplio efecto en el carácter permitiría la implementación de programas de retrocruzamiento asistido a fin de incorporar resistencia en materiales elite susceptibles.

Con el objetivo de identificar marcadores ligados a genes mayores de resistencia al virus del Mal de Río IV, se han desarrollado dos poblaciones de líneas recombinantes (RIL's) a partir de dos fuentes de resistencia diferentes.

Mediante el análisis de 120 marcadores microsatélites se evaluó el polimorfismo entre los genotipos parentales y los loci polimórficos se están analizando en las líneas recombinantes. En la campaña 2002/2003 ambas poblaciones de RIL's fueron caracterizadas fenotípicamente bajo condiciones de infección natural en dos

localidades de la zona endémica. Una de ellas fue además evaluada bajo infección artificial con insectos virulíferos criados e infectados en laboratorio en base al aislamiento "Río IV". Estos últimos trabajos son desarrollados en los laboratorios del Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal del INTA.

##### *Resistencia a Fusarium sp*

La Argentina es el segundo exportador mundial de maíz y el mayor exportador de maíz tipo flint. Sin embargo, los híbridos comerciales que se hallan disponibles no poseen adecuados niveles de resistencia a la podredumbre de la espiga causada por *Fusarium sp* y los niveles de micotoxinas superan los valores de concentración legalmente permitidos por los países compradores.

Actualmente, una amplia muestra de germoplasma de maíz compuesta de landraces (Razas Locales), poblaciones mejoradas y líneas están siendo evaluadas como fuentes de resistencia a *Fusarium sp*. De acuerdo a los resultados obtenidos en la campaña 2003/2004, se seleccionarán líneas resistentes a *Fusarium sp* y con menores contenidos de micotoxinas en grano a fin de desarrollar una población de mapeo para los genes de resistencia a *Fusarium sp*.

##### *Análisis de Poblaciones Heteróticas de Maíz*

El mejoramiento genético de maíz se fundamenta en la explotación de la heterosis o vigor híbrido, fenómeno que ocurre principalmente cuando se cruzan dos líneas endocriadas y el híbrido resultante presenta un valor agronómico mayor que lo esperado si se considera solo la media aritmética de las líneas parentales.

Los patrones heteróticos se establecen sobre la base de cruzamientos de líneas o poblaciones con testers, ensayos dialélicos o programas de selección recurrente recíproca. Generalmente es imposible evaluar todas las posibles combinaciones entre líneas obtenidas en los programas de mejoramiento. A partir de la década de los 80, se ha planteado como alternativa el uso de

información molecular para asignar las líneas a grupos heteróticos previamente establecidos.

Se han caracterizado mediante microsatélites 31 líneas obtenidas en el INTA Pergamino junto con 4 poblaciones testers utilizadas en sus cruzamientos de prueba, con el fin de establecer la utilidad de los marcadores moleculares para asignar nuevas líneas a patrones heteróticos locales.

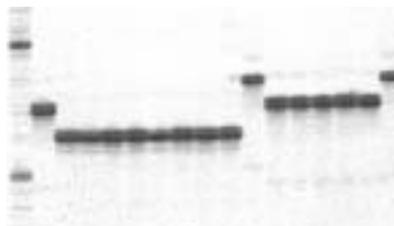
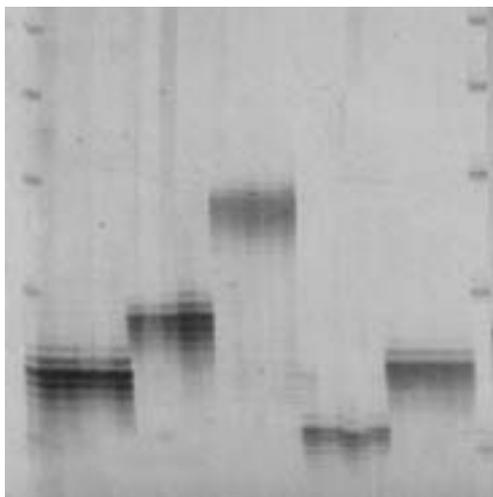
#### Calidad

La calidad nutricional del aceite de maíz se debe principalmente a su contenido en ácidos grasos no saturados. Actualmente se

esta caracterizando, mediante marcadores, germoplasma de maíz con composición diferencial en cuanto al contenido de ácido grasos

#### CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GERMOPLASMA DE MAÍZ

La caracterización fenotípica de las líneas e híbridos del Programa de Mejoramiento de Maíz del INTA Pergamino se complementa con la caracterización molecular basada en marcadores microsatélites. Esto permite además, controlar la uniformidad y estabilidad de las líneas durante los sucesivos ciclos de multiplicación y establecer la relación genética entre las mismas (fig. 2 y 3). ●



● Figuras 2 y 3: Patrón de identificación de 5 líneas de maíz, del microsatélite bngl 105

#### Bibliografía

- Litt, M. and J.A. Luty 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene Am. J. Hum. Genet. 44: 776-783.
- Chin, E.; Senior, M. L.; Shu, H; & Smith, J. S. C. 1996. Maize simple repetitive DNA sequence: abundance and allele variation. Genome, 39:866-873.
- Michelmore, R. W.; Paran, I & R. V. Kesseli. 1991. Identification of Markers Linked to Disease Resistance Genes by Bulk segregant Analysis: A Rapid Method to Detect Markers in Specific Genomic Regions by Using Segregating Populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 88. 9828 - 9832. November 1991.