

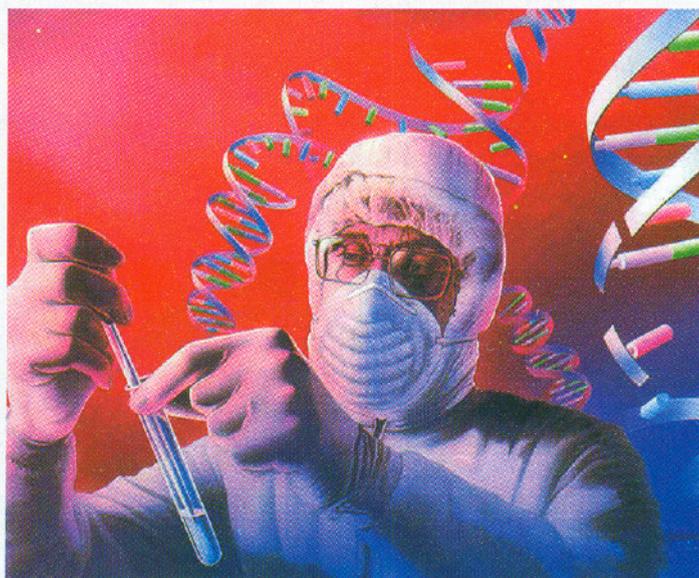
## MEJORAMIENTO VEGETAL MEDIANTE SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES

### Notas del Director

El conocimiento y caracterización de las enfermedades hereditarias en humanos ha avanzado mucho en los últimos años. Gracias al desarrollo de técnicas moleculares ha sido posible identificar estas anomalías y predecir en etapas embrionarias muy tempranas las características fenotípicas del individuo que va a nacer. A partir del dominio y conocimiento de estas técnicas, la agricultura ha ido alcanzando un desarrollo notable pues las ha utilizado en la incorporación de genes deseables en los materiales mejorados. El mayor impacto de esta estrategia de mejoramiento es su aplicación en especies perennes como la palma de aceite, ya que permite agilizar sustancialmente la identificación de individuos con características deseables sin necesidad de mantenerlos por varios años en observación en el campo.

En el Programa de Mejoramiento de GENPALMA se espera poder utilizar los marcadores moleculares, no solamente para agilizar la selección por productividad, sino también para identificar características deseables de *E. oleifera* cuando se utilicen retrocruzamientos con *E. guineensis*.

Pedro León Gómez Cuervo  
Director Ejecutivo



La combinación de métodos clásicos de genética y mejoramiento con tecnologías moleculares de análisis genómico, abre una nueva perspectiva para la ampliación del conocimiento genético y acelera los programas de mejoramiento. En los últimos 20 años la biotecnología ha experimentado un desarrollo extraordinario: desde el descubrimiento de las primeras moléculas de ADN hasta nuestros días, las

técnicas han avanzado a pasos gigantescos. En la actualidad, es posible predecir si un feto está afectado por una enfermedad hereditaria, identificar mutaciones en el ADN o localizar la posición de un gen concreto en un cromosoma, e incluso modificar el patrimonio genético de plantas, animales y humanos.

La utilización del análisis molecular, la genética y el mejoramiento de plantas, se han beneficiado sustancialmente con las tecnologías desarrolladas para el estudio

del genoma de otros organismos, principalmente del genoma humano. La utilización de una u otra técnica de marcadores moleculares debe ser guiada por el problema que se presenta en el mejoramiento de los cultivos, teniendo en cuenta las ventajas y limitaciones de cada marcador.

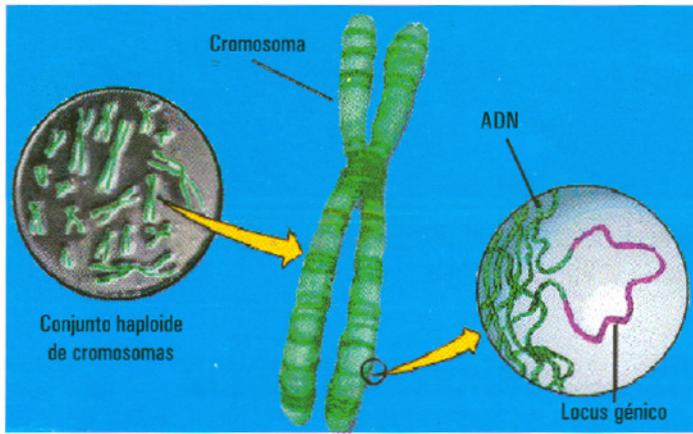
El objetivo de este *Ceniavances* es dar una visión general sobre los marcadores moleculares en el mejoramiento de plantas, su utilidad potencial y principalmente en la práctica de selección precoz en cultivares perennes como la palma de aceite.

### MARCADORES MOLECULARES EN EL MEJORAMIENTO DE CULTIVOS

El mejoramiento genético de plantas se ha practicado con éxito desde comienzos de la civilización. El avance genético puede ser alcanzado a partir del momento en que exista variabilidad genética, y además sea posible realizar selección y recombinación de genotipos superiores para garantizar el establecimiento de la próxima generación.

Tradicionalmente, el progreso en el mejoramiento se ha basado exclusivamente en el análisis de

\* Inv. Aux. Victoria Eugenia Villegas, Área Fitomejoramiento. Cenipalma. A.A. 252171, Santafé de Bogotá, Colombia

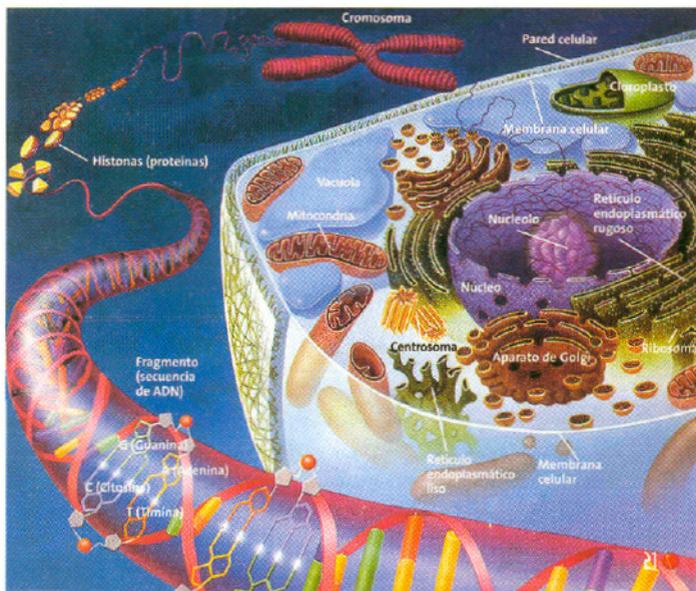


Técnicas moleculares, permiten localizar la posición de un gen concreto en el cromosoma

fenotipos. El éxito de este análisis, entre otros factores, depende de la heredabilidad del carácter.

Muchas de las complicaciones del análisis fenotípico pueden ser mitigadas a través de la identificación directa del genotipo. Para ello puede utilizarse un sistema de diagnóstico basado en marcadores moleculares de segregación conjunta a los genes de interés. La célula es la unidad más pequeña de vida que poseen las unidades hereditarias que se transmiten de una generación a la siguiente denominadas genes, y cuya expresión es la que finalmente determina la función y morfología de cada individuo u organelo. Las tecnologías del análisis molecular de la variabilidad del ADN permiten determinar puntos de referencia en los cromosomas, técnicamente denominados «marcadores moleculares».

Las aplicaciones a corto plazo incluyen básicamente la identificación y discriminación de genotipos. A mediano y largo plazo, los marcadores moleculares permiten cuantificar la variabilidad genética existente a nivel de secuencias del ADN y correlacionarla con la expresión fenotípica en procedimientos de mapeo genético (Tabla 1).



Célula. Las funciones fisiológicas y morfológicas son controladas por los genes

## SELECCIÓN ASISTIDA POR MARCADORES (MAS, *Marker Assisted Selection*)

El argumento que frecuentemente se tiene en contra de la selección asistida o ayudada por marcadores es que el mejoramiento de características de herencia simple, no necesita de éstos para la selección puesto que los fenotipos pueden ser fácilmente identificados. Aunque esto sea básicamente correcto, el uso de marcadores moleculares ligados a genes de resistencia a enfermedades y plagas puede tener un impacto importante en la selección de genotipos resistentes.

La selección indirecta a través de marcadores es importante porque facilita enormemente la selección de genotipos superiores evitando la consecuente manipulación de los organismos involucrados. Esto toma mayor importancia en programas de mejoramiento que buscan la introgresión de un determinado carácter de un progenitor (fuente), mientras mantienen constantes otras regiones del genoma del material recurrente.

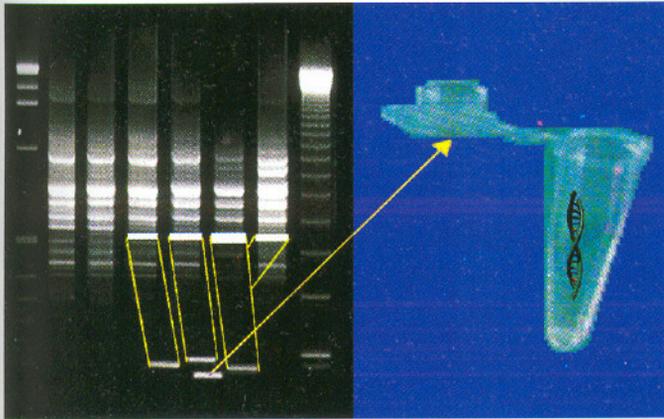
Tabla 1. Principales aplicaciones de metodologías basadas en marcadores moleculares en el mejoramiento de plantas

Aplicaciones a corto plazo
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Identificación de origen parental o prueba de paternidad</li> <li>2. Identificación y protección de variedades</li> <li>3. Certificación de pureza genética</li> <li>4. Evaluación de germoplasma y poblaciones destinadas para mejoramiento (variabilidad, diversidad, clasificación, distancia genética, filogenia)</li> <li>5. Creación de bancos de germoplasma a partir de estudios sobre diversidad y distancia genética</li> </ol>
Aplicaciones a mediano y largo plazo
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Construcción de mapas genéticos</li> <li>2. Mapeo genético de QTLs (<i>Quantitative trait loci</i>), controladores de características cuantitativas o de importancia económica</li> <li>3. Análisis de la arquitectura de características cuantitativas (número, posición, acción génica, magnitud de efecto e interacciones de QTLs)</li> <li>4. Detección de <i>loci</i>/homólogos en otras especies o géneros a través de mapas comparativos</li> <li>5. Introgresión de características por retrocruzamiento asistido por marcadores</li> <li>6. Selección indirecta para características de difícil evaluación</li> <li>7. Selección precoz en cultivos perennes</li> <li>8. Predicción de fenotipos esperados</li> </ol>

La selección asistida por marcadores tiene una gran aplicación en los programas de retrocruzamiento, en el desarrollo de linajes, en el mejoramiento de características cuantitativas y mejoramiento de especies perennes.

### Programas de retrocruzamiento

Una de las aplicaciones más concretas de los marcadores moleculares es su utilización en los programas de introgresión vía retrocruzamientos. Se utilizan marcadores moleculares fuertemente ligados a los genes que se desean introgradir para conservar su presencia en las genera-



La tecnología del ADN recombinante y el desarrollo de la amplificación de segmentos de ADN, abrieron el camino del cambio, en el paradigma genético básico: de la inferencia del genotipo a partir del fenotipo, a el análisis directo de la variación en la secuencia de ADN

ciones de retrocruzamiento. Al mismo tiempo, el uso del concepto de genotipos gráficos de marcadores moleculares, permite la selección de individuos que además de poseer el gen en introgresión, presentan una mayor proporción del genotipo recurrente, lo que reduce así el número de generaciones de retrocruzamiento necesarias para el desarrollo de variedades.

### Desarrollo de linajes

La selección asistida por marcadores puede ser utilizada durante el proceso de autofecundación de linajes de manera análoga al retrocruzamiento, lo cual reduciría el número de generaciones de autofecundación necesarios para obtener homocigosis en los *loci* deseados.

### Mejoramiento de características cuantitativas

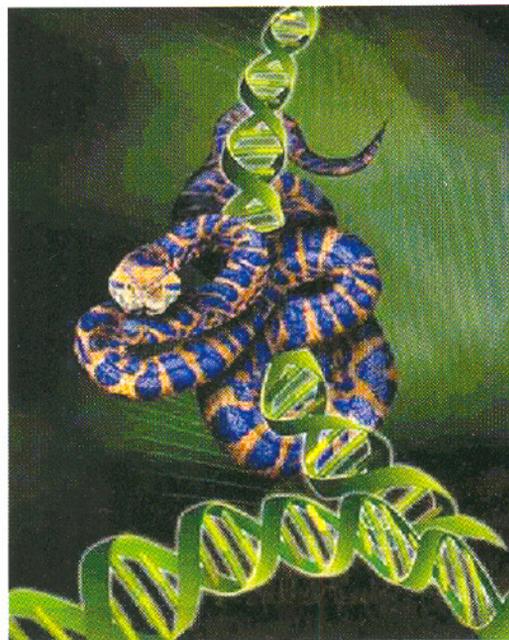
Quizá es este el punto de mayor impacto en la tecnología de la selección asistida por marcadores. La gran mayoría de las características heredables de importancia económica resultan de una acción conjunta de varios genes. Estas características se denominan poligénicas, cuantitativas o de herencia compleja. El fenotipo resultante presenta una variación continua en vez de clases fenotípicas discretas. Características tales como productividad, crecimiento volumétrico y precocidad, son ejemplos de herencia cuantitativa. Es muy poca la información existente respecto al número, posición cromosómica, magnitud del efecto e interacciones de los *loci* que controlan la expresión de la mayoría de las características cuantitativas.

Estos *loci* se denominan QTL, *Quantitative trait loci*, es decir, *loci* controladores de características cuantitativas. La manipulación de características de herencia continua es considerablemente más compleja que la de herencia simple. Los mapas genéticos de marcadores moleculares ofrecen la posibilidad de estudiar la arquitectura de caracterís-

ticas cuantitativas, o sea, identificar, mapear y medir la magnitud del efecto de los principales factores genéticos involucrados en el control de estas características, y permiten además, manipular estos factores individualmente durante los procedimientos de selección y recombinación genética.

### Mejoramiento de especies perennes

La utilización de marcadores moleculares como herramienta de selección en cultivos perennes, es una tecnología muy atractiva teniendo en cuenta el tiempo necesario para completar una generación de mejoramiento de estas



Aunque existen argumentos en contra de la selección asistida por marcadores, no se puede negar que muchas de las complicaciones del análisis fenotípico, pueden ser mitigadas a través de la identificación directa del fenotipo

especies. La perspectiva de volver más eficaz la selección precoz y con eso aumentar la ganancia genética por unidad de tiempo, hace que el mejoramiento de especies como la palma de aceite sea el área donde el uso efectivo de esta tecnología tiende a tener las mejores perspectivas de éxito.

### CONCLUSIONES

En la actualidad se encuentran disponibles diversas técnicas de biología molecular para la detección de variabilidad genética a nivel de secuencia de ADN, para la detección de polimorfismo genético. Estas técnicas permiten la obtención de un número ilimitado de marcadores moleculares cubriendo todo el genoma del organismo. Tales marcadores pueden tener las más diversas aplicaciones, tanto en el estudio de genética como en la práctica del mejoramiento de plantas, el cual se ha beneficiado sobre todo de los avances obtenidos en el área de la genética humana.

Las tecnologías de análisis molecular más accesibles y eficientes están constantemente en marcha. Los métodos estadísticos acompañan este desarrollo y han permitido la manipulación de enormes cantidades de datos. Hoy en día la identificación y localización de genes de importancia económica es un objetivo posible no solamente en los cultivos tradicionales más estudiados y manipulados genéticamente, sino también en especies esencialmente no domesticadas de hábito alógamo como la palma de aceite.

### BIBLIOGRAFÍA

- BURR, B. 1994. Some concepts and new methods for molecular mapping in plants. DNA - Based Markers in Plants, p. 1 - 7.
- FERREIRA, M.E.; GATTAPAGLIA, D. 1997. Aplicaciones de marcadores moleculares en el mejoramiento de plantas. Introducción al uso de marcadores en el análisis genético. Embrapa, p. 74 - 11.
- KAEPPLER, S.M. 1997. Power analysis for quantitative trait locus mapping in population derived by multiple back crosses. Theor app genet. vol. 95, p. 618 - 621.

## RELACIÓN ENTRE LOS COMPONENTES DEL RACIMO Y LA TASA DE EXTRACCIÓN DE ACEITE



La tasa de extracción de aceite (TEA), es un índice utilizado comúnmente para evaluar la eficiencia de una operación dentro del sector productivo del aceite de palma. Este índice se basa en la relación másica entre el aceite y el resto de material del racimo fresco, y varía de acuerdo con las proporciones en que se distribuyan y cambien los componentes dentro del

racimo. En Colombia, al igual que en otros países como Malasia y Costa Rica, las plantas extractoras presentan fluctuaciones en la TEA causadas principalmente por los siguientes factores:

- Tipo de material genético, edad del cultivo y contaminación de palmas con «Dura».
- Variación en la conformación del racimo provocada por cambios estacionales del clima que afectan la eficiencia de la polinización.
- Factores climáticos (lluvias y luminosidad) y geográficos que afectan la fisiología del cultivo.
- Manejo de las rutinas de cosecha (disponibilidad de mano de obra, ciclos de cosecha, estándares de maduración y pérdida de fruto suelto).
- Eficiencia de la maquinaria.

La fluctuación de los diferentes componentes del racimo y la TEA, se debe en parte al cambio en la relación fruto/racimo originada por deficiencias en la polinización, la cual está relacionada con la disminución en la población de insectos polinizadores, así como con la disponibilidad y la viabilidad del polen en determinadas épocas del año. El índice mencionado, se ha relacionado positivamente con las horas luz y negativamente con la precipitación 5 y 6 meses antes de la cosecha. Otras variables como aceite/mesocarpio y mesocarpio/fruto, también son susceptibles de un comportamiento estacional, influyendo en menor magnitud sobre la TEA.

El aceite/mesocarpio es afectado principalmente por la precipitación y la radiación solar pocas semanas antes de la cosecha. Al respecto se determinó que un alto número de racimos bajo condiciones limitadas de luz, conduce a una menor producción de aceite que tiene que ser distribuida entre muchos racimos.

Aunque la edad de la palma incide en el incremento del peso del racimo, y su rendimiento (kg/palma/año), esta misma influye en la disminución de la relación fruto/racimo y aumento de la proporción de frutos internos con un menor contenido de aceite, los cuales son causantes de una reducción en la TEA. Un alto porcentaje de polinización puede inducir variaciones en la relación mesocarpio/fruto. Al mismo tiempo, esta variable está directamente vinculada con la relación frutos/racimo, cuando la polinización es cercana al 70%.

En recientes estudios, se ha determinado el alto grado de correlación existente entre el contenido de humedad y aceite en la pulpa del fruto. Esto significa

que es factible estimar el contenido de aceite en la pulpa a través de la cuantificación de la humedad en la misma.

Edgar Yáñez Angarita, Ing. Químico; Cenipalma, A.A. 252171, Santafé de Bogotá Colombia

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE MATERIALES *Elaeis guineensis* TOLERANTES Y SUSCEPTIBLES A PUDRICIÓN DE COGOLLO

Materiales *guineensis* en focos de PC han mostrado tolerancia a la enfermedad, lo que indicaría un componente genético de resistencia al patógeno por parte de esta especie, posiblemente relacionado con varios genes, ya que no se tiene conocimiento de interacciones «gen x gen» lo cual significaría un mecanismo de herencia simple controlada por un gen. En algunas enfermedades causadas por virus y hongos en otros cultivos, se ha determinado molecularmente la existencia de varios genes que determinan tolerancia o susceptibilidad con una posible acción dominante de un gen mayor y una acción aditiva de otros, esto podría ser aplicable a *Elaeis guineensis* si se considera el alto nivel de resistencia que muestran algunos materiales y en especial individuos del ensayo de progenie CPT-9 código 29. Tratando de encontrar marcadores asociados a estos posibles genes mayores se empezaron a evaluar materiales contrastantes. Inicialmente se trabajó con tres individuos tolerantes y tres susceptibles tanto en campo como en laboratorio buscando cebadores que pudieran discriminar entre estos dos grupos. Luego se incorporaron más materiales y nuevos cebadores para comprobar la eficacia de los marcadores. Este año se evaluaron 90 cebadores polimórficos con 20 materiales evaluados en campo y laboratorio, 4 tolerantes, 16 susceptibles. Se comprobó además cuales de los 25 cebadores seleccionados en el estudio inicial servirían como marcadores. De los 90 cebadores se seleccionaron como posibles candidatos para tolerancia dos cebadores, el C16 y el J08 y para susceptibilidad el cebador AK11. De los estudios iniciales se descartaron todos los cebadores que parecían indicar tolerancia ya que evaluados con los nuevos materiales no discriminaban entre grupos. De los cebadores que identifican susceptibles solamente se seleccionó el V3 que es el más consistente, aunque es necesario incorporar más materiales. El correcto uso de estos marcadores moleculares ligados a genes de resistencia, puede tener un impacto importante en el programa de mejoramiento, ya que aumenta la ganancia genética por unidad de tiempo.

Victoria Eugenia Villegas, Bióloga genética; Pedro León Gómez Cuervo, Ing. Agr. MSc. PhD. Cenipalma, A.A. 252171, Santafé de Bogotá Colombia; Stephen Beebe, MSc. PhD. Fitomejorador

Director  
Pedro León Gómez Cuervo  
Coordinación Editorial:  
Oficina de Comunicaciones de Fedepalma  
Diseño y Diagramación:  
Bilma Camargo, Cenipalma  
Impresión  
Editorial Kimpres. Tel.: 2601680  
Esta publicación contó con el apoyo del  
Fondo de Fomento Palmero