

Poblaciones de premejora

Apellidos, nombre	Pérez de Castro, Ana María (anpede1@btc.upv.es)
Departamento	Biotecnología
Centro	Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural

1 Resumen de las ideas clave

La mejora de las especies cultivadas se ha basado, en muchos casos, en la introgresión de características de interés procedentes de especies silvestres relacionadas. Es frecuente que este proceso de introgresión sea costoso debido a la incompatibilidad entre las especies silvestres y la cultivada, además de a la necesidad de realizar un número elevado de retrocruces. Como consecuencia, con objeto de realizar un mejor aprovechamiento del potencial de las especies silvestres, han surgido las llamadas poblaciones de premejora.

2 Objetivos

El presente artículo docente tiene como objetivo proporcionar al alumno las bases para que sea capaz de:

- Justificar la utilidad de las poblaciones de premejora.
- Describir el proceso para la obtención de diferentes tipos de poblaciones de premejora
- Evaluar la utilidad de distintas poblaciones para distintos objetivos de mejora

3 Introducción

Las especies vegetales cultivadas tienen generalmente una base genética muy estrecha. Es, por tanto, frecuente que sea necesario buscar características de interés en las especies silvestres relacionadas. De esta forma, una vez identificados los materiales portadores de estas características, los programas de mejora abordan la introgresión del gen o los genes que las controlan.

En este sentido, el proceso de introgresión es generalmente costoso, debido a distintos factores. Por una parte, puede suceder que exista cierto grado de incompatibilidad entre la especie silvestre y la cultivada, de forma que sea necesario emplear técnicas especiales como el rescate de embriones para la obtención del híbrido interespecífico y de las generaciones posteriores. Por otra parte, serán necesarios varios retrocruces hacia la especie cultivada hasta obtener plantas con el fondo genético de la especie cultivada, pero que incorporen el o los genes de interés. Además, el proceso de selección de los materiales portadores de la característica puede ser más o menos complejo, y en un programa de retrocruzamiento es necesario realizar selección en cada generación.

Ante esta situación, una vez identificada una fuente con características útiles, resulta de interés aprovechar el esfuerzo llevado a cabo en el proceso, para el desarrollo de poblaciones que puedan utilizarse en el contexto de distintos programas de mejora. Estas poblaciones son las que se conocen como poblaciones de premejora. Existen distintos tipos de poblaciones de premejora; la característica común es que se trata de un conjunto de líneas cada una de las cuales contiene una fracción del genoma de la especie silvestre en el fondo genético de la especie cultivada.

La premejora puede considerarse como una actividad entre la conservación de germoplasma y su utilización (Cooper et al., 2001). Como resultado de la utilización

de materiales silvestres relacionados con las especies cultivadas se generan materiales "genéticamente valorizados" que se incorporan en los programas de mejora como líneas parentales para distintos objetivos.

La obtención de las poblaciones de premejora es también un proceso largo y costoso. El desarrollo de las mismas se ve justificado por el hecho de que los materiales desarrollados presentan las distintas características de interés de las especies silvestres, pero en el fondo genético de la especie cultivada, de forma que son directamente aprovechables en mejora. Esto supone una reducción en la duración de los programas de mejora. Además, como se explicará a continuación, suponen una herramienta muy útil para el cartografiado de genes o regiones implicadas en el control de caracteres cuantitativos (*Quantitative Trait Loci*, QTLs).

En concreto, **¿qué tipo de poblaciones son las que se generan?** Veremos a continuación los principales tipos de poblaciones de premejora y cuál es el proceso que lleva a su obtención.

4 Desarrollo

Ya se ha explicado la causa de que, en un intento de aprovechar todo el potencial de las especies silvestres, surjan las poblaciones de premejora. Pero, **¿cómo se obtienen estas poblaciones?**

El primer paso es la obtención del híbrido interespecífico entre el parental silvestre o donante y el parental cultivado o recurrente. Los pasos a seguir a partir de este primer híbrido interespecífico van a venir determinados por el tipo de población a desarrollar.

A continuación se describirá el **proceso de obtención** de las principales poblaciones de premejora. Además, se comentarán **las ventajas e inconvenientes** de cada una de ellas.

4.1 Líneas recombinantes consanguíneas

Para el desarrollo de líneas recombinantes consanguíneas (*Recombinant Inbred Lines*, RILs), el híbrido interespecífico inicial se autofecunda (como alternativa, se cruzan dos plantas del híbrido) y las plantas así obtenidas continúan autofecundándose hasta obtener un conjunto de líneas homocigotas. Como alternativa, se pueden intercalar generaciones en las que se cruzan plantas de la misma generación, finalizando con generaciones de autofecundación para generar homocigotos (Pollard, 2012). Cada una de las plantas diferirá de las demás en la combinación de alelos que contenga (Figura 1).

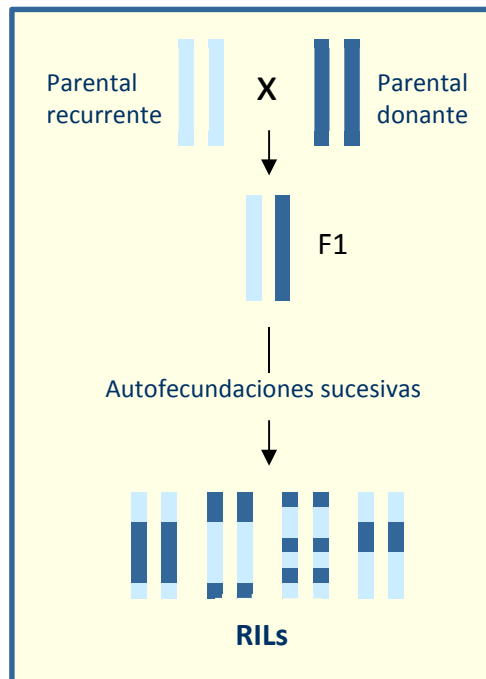


Figura 1. Esquema del proceso de obtención de líneas recombinantes consanguíneas (Recombinant Inbred Lines, RILs) por autofecundaciones sucesivas.

Las RILs, debido al alto grado de homocigosis, constituyen un material muy estable (Bailey, 1971). Esto permite disponer de varias réplicas por experimento o evaluar caracteres en distintos ambientes. Presentan, sin embargo, el inconveniente, de conservar un alto porcentaje del genoma del parental donante. Esto puede dificultar la evaluación de algunos caracteres.

4.2 Retrocruces avanzados

Las generaciones de retrocruces avanzados (*Advanced Backcross Populations, AB*) se obtienen retrocruzando el híbrido interespecífico con el parental recurrente durante varias generaciones. De esta forma, a medida que avanzan las generaciones, se va reduciendo la proporción del genoma donante. El objetivo es obtener un conjunto de materiales que contengan el genoma completo del parental donante dividido en pequeños fragmentos, en el fondo genético del parental recurrente.

Estas poblaciones, al tener un menor grado de homocigosis, son menos repetibles que las RILs. Una variante que resuelve en parte este inconveniente, son las generaciones de retrocruces avanzados con autofecundación (*Backcross Inbred Lines, BILs*). Para obtener BILs, una vez realizadas las generaciones de retrocruce, los materiales obtenidos se autofecundan durante una o varias generaciones (Figura 2). Como resultado, el grado de homocigosis en las BILs es mayor que en las generaciones AB.

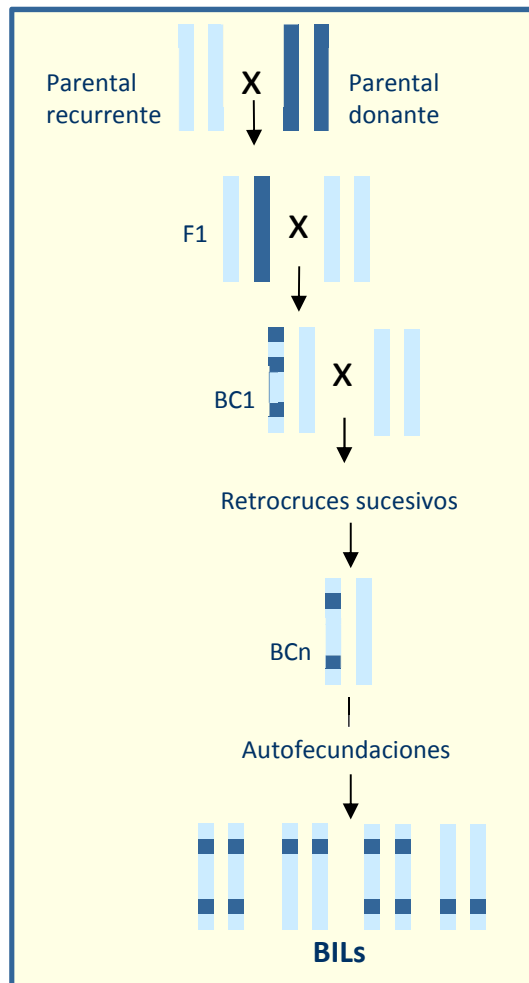


Figura 2. Esquema del proceso de obtención de las generaciones de retrocruces avanzados con autofecundación (Backcross Inbred Lines, BILs). BC: backcross, generación de retrocruzamiento.

Estas poblaciones, al tener un menor grado de homocigosis, son menos repetibles que las RILs. Una variante que resuelve en parte este inconveniente, son las generaciones de retrocruces avanzados con autofecundación (*Backcross Inbred Lines*, BILs). Para obtener BILs, una vez realizadas las generaciones de retrocruce, los materiales obtenidos se autofecundan durante una o varias generaciones (Figura 3). Como resultado, el grado de homocigosis en las BILs es mayor que en las generaciones AB (Jeuken y Lindhout, 2004).

La evaluación de caracteres con AB y BILs suele resultar más fácil que con las RILs, debido a que presentan menor proporción del genoma del parental donante, teniendo un fondo genético más uniforme.

¿Qué poblaciones tendrán una aplicación más directa en mejora, las RILs o las BILs?

4.3 Líneas de introgresión

El proceso de obtención de las líneas de introgresión (*Introgression Lines*, ILs) es similar al de obtención de BILs. La diferencia es que son necesarias más

generaciones de retrocruce, ya que el objetivo final es conseguir un conjunto de líneas, cada una de ellas con un único fragmento del parental donante en el fondo genético del parental recurrente. Idealmente el conjunto de ILs contiene todo el genoma del parental donante, fragmentado en introgresiones solapantes contenidas en cada una de las líneas (Figura 3). Cada una de las líneas es una línea casi isogénica (*Near Isogenic Lines*, NILs) con respecto al parental recurrente.

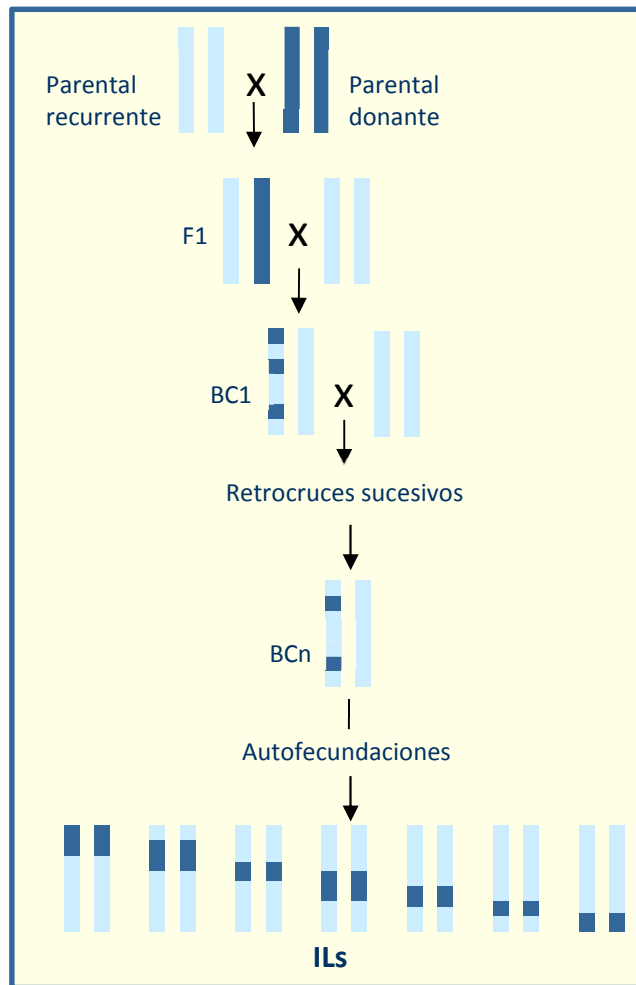


Figura 3. Esquema del proceso de obtención de líneas de introgresión (Introgression Lines, ILs). BC: backcross, generación de retrocruzamiento.

La principal desventaja de este tipo de líneas es que se requiere mucho tiempo para su obtención. Si se dispone de marcadores moleculares polimórficos entre ambos parentales bien distribuidos por todo el genoma, es posible obtener un conjunto de líneas en 10 generaciones de cruzamientos con genotipado. Ha sido posible desarrollar líneas de introgresión a partir de materiales genéticamente muy distintos a las especies cultivadas (ver ejemplo en cuadro 1).

Cuadro 1. El conjunto de líneas de introgresión de *Solanum lycopersicoides* en el fondo genético del tomate cultivado

La especie *Solanum lycopersicoides* es una de las más genéticamente alejadas entre las relacionadas con el tomate. Existe un alto grado de incompatibilidad entre ambas. Sin embargo, empleando la técnica de rescate de embriones y su posterior cultivo *in vitro* fue posible obtener el híbrido interespecífico entre la entrada LA2951 de *Solanum lycopersicoides* y la variedad VF36 de tomate cultivado. Este híbrido pudo ser retrocruzado hacia tomate y, de nuevo mediante rescate de embriones, fue posible obtener el primer retrocruce. Después de algunas generaciones más de retrocruce, seguidas de varias generaciones de autofecundación, se desarrollaron 272 líneas que constituyeron el material de partida para la colección de ILs (Canady et al., 2005). Los criterios de selección de las ILs fueron la preferencia por fragmentos de *S. lycopersicoides* introgresados en homocigosis, así como la presencia de fragmentos únicos frente a introgresiones múltiples. La mayor parte de las líneas se seleccionaron en la generación BC₂F₂₋₇. Para cubrir algunos fragmentos fue necesario seleccionar líneas antes (BC₁F₆₋₇) o después (BC₄F₆).

El conjunto de ILs está formado por 90 líneas. Se dividen en dos grupos: el primero conteniendo 56 líneas, con una máxima cobertura del genoma en homocigosis y mínimo número de fragmentos por línea; el segundo constituido por 34 líneas, contiene recombinantes en ciertas regiones del genoma. El primer grupo permite la búsqueda inicial de caracteres de interés, mientras que el segundo se puede emplear para mejorar la resolución del mapa en algunas regiones, confirmando la localización de QTLs con segmentos solapantes.

Las ILs son materiales muy repetibles, puesto que el grado de homocigosis es muy elevado. Constituyen un material idóneo para el cartografiado. El hecho de que cada línea presente un único fragmento de la especie silvestre, permite asociar las diferencias entre cada línea y el parental recurrente con el fragmento introgresado.

¿Por qué crees que es importante que los fragmentos sean solapantes entre las distintas líneas?

5 Cierre

Las poblaciones de premejora surgieron con el objetivo de hacer un aprovechamiento más eficiente del potencial de las especies silvestres para la mejora de las especies cultivadas. Se inician mediante el cruce entre un parental donante con un parental recurrente (de la especie cultivada). Este híbrido es el que se utiliza para, mediante retrocruzamientos, cruces entre plantas de la misma generación o autofecundación, generar los materiales finales. Existen distintos tipos de poblaciones de premejora. Lo que tienen en común es que se trata de materiales con introgresiones de la especie donante en el fondo genético del parental recurrente. Las ventajas o inconvenientes de cada una de las poblaciones dependen de la constitución genética de las mismas.

6 Bibliografía

Bailey DW. 1971. Recombinant inbred strains. *Transplantation* 11:325-327.

Canady MA, Meglic V, Chetelat RT. 2005. A library of *Solanum lycopersicoides* introgression lines in cultivated tomato. *Genome*, 48: 685-697.

Cooper H.F., Spillane C., Hodgkin T. 2001. Broadening the genetic base of crops: an overview. En: Cooper H.D., Hodgkin T., Spillane C. (Eds.). *Broadening the genetic base of crops production*. IPGRI y FAO, 1-23.

Jeuken M.J.W, Lindhout P. 2004. The development of lettuce backcross inbred lines (BILs) for exploitation of the *Lactuca saligna* (wild lettuce) germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 394-401.

Pollard, D.A. 2012. Design and Construction of Recombinant Inbred Lines. *Quantitative Trait Loci (QTL)*. *Methods in Molecular Biology*, 871: 31-39.