

LA GENÉTICA VEGETAL, EL MEJORAMIENTO Y LA SOCIEDAD

María T. Cornide[✉]

ABSTRACT. This paper describes the evolution of gen concept over the first century of Genetics, its most important results and impact on plant breeding. It also shows the main research tendencies of plant genomic studies and its expected effect on the further achievement of new varieties.

RESUMEN. Se describe la evolución del concepto de gen en el primer siglo de la Genética, los resultados más importantes de esta ciencia y su repercusión en el mejoramiento de plantas. Se discuten las principales tendencias de investigación de los estudios genómicos en plantas y la repercusión esperada en la obtención futura de nuevas variedades.

Key words: molecular markers, plant breeding, genomes

Palabras clave: marcadores moleculares, fitomejoramiento, genomas

EL GEN Y LA GENÉTICA

Una manera de recorrer el desarrollo de la Genética como ciencia durante su primer siglo de existencia, es recordar la evolución del concepto del gen.

Este término fue propuesto en 1909 (1) para designar la unidad hereditaria en su sentido más amplio, con independencia de su naturaleza física o química por entonces desconocida.

En la evolución de este concepto hay tres etapas o saltos bien definidos, que se corresponden con el nivel de conocimientos y las potencialidades tecnológicas con que se contaba.

El primer período (1900-1944) estuvo dominado por la herencia mendeliana o de la variación cualitativa; estos estudios partían de la evaluación de la apariencia externa (fenotipo) para inferir la composición genética (genotipo) del individuo y los resultados científicos más relevantes se obtuvieron gracias a la feliz elección de dos modelos biológicos: la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y del maíz (*Zea*

mays). Durante este período el gen se perfiló como único, en equivalencia completa con las unidades de transmisión, recombinación, mutación y función. Los genes clásicos se localizaban en puntos fijos del cromosoma, alineados de forma continua a lo largo de éste. Cada gen tenía como función codificar una enzima (un gen-una enzima), según evidenciaban los resultados del trabajo con mutantes nutricionales del moho del pan (*Neurospora crassa*).

El concepto de la unidad hereditaria, como partícula indivisible de la transmisión y recombinación de la herencia y su demostración en términos de las proporciones de sus portadores, fue el aporte esencial del fundador, Gregorio Mendel (2). En el momento del descubrimiento de sus trabajos de forma independiente (3, 4, 5), este concepto mostró la solución para explicar la variación hereditaria en el marco de la "Teoría de la Evolución" planteada por Charles Darwin (6), la cual era muy discutida por no contar con una explicación satisfactoria basada en el concepto vigente de la herencia mezclada.

En 1901, se propuso el término de mutación (7) para nombrar las variantes derivadas de un gen (alelos) y, más tarde, se formulara la "Teoría de las Mutaciones" (8, 9), basada en los estudios genéticos en *Drosophila*.

Posteriormente se dio una interpretación mendeliana a la depresión consanguínea observada en ratones y el guisante, respectivamente (10, 11, 12).

Un conjunto importante de resultados para confirmar la herencia mendeliana fueron aportados por experimentos en trigo (13) y maíz (14). Sin embargo, la variación de muchas características no se ajustaba al patrón discontinuo descrito por Mendel. Johannsen (1) estudió el peso del grano del frijol y demostró que si se efectuaba una selección para fenotipos extremos en líneas altamente homocigóticas (líneas puras), esta era inefectiva. Por lo tanto, solo una parte de la variación visible en esos casos era hereditaria, había que diferenciar el fenotipo del genotipo quedando establecidos estos términos.

Se establecieron dos escuelas y fue Fisher (15) quien demostró que la barrera entre ambos tipos de variación hereditaria era más aparente que real. Para solucionar esta discrepancia, Fisher planteó que la contribución genética a un carácter de variación cuantitativa era el resultado de la suma de pequeños efectos aditivos de un grupo numeroso de genes (factores múltiples). En principio, era posible extender los principios mendelianos aplicables a un gen, pero era evidente que los métodos de evaluación no eran extrapolables.

Dr.C. María T. Cornide, Investigadora Titular del Departamento de Biotecnología de las Plantas, Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC), ave. 25 y 158, Cubanacán, Playa, Ciudad de La Habana

✉ cornide@biocnic.cneuro.edu.cu

Surgió entonces la Genética Cuantitativa, encargada del estudio de este tipo de características, de gran importancia para los estudios evolutivos y para el uso de la genética en el mejoramiento de animales y plantas, puesto que la mayoría de los caracteres de interés económico son de este tipo.

Para extender los principios mendelianos era preciso: considerar principios genéticos propios del nivel biológico poblacional y desarrollar métodos de estimación del aporte a la variación fenotípica de los poligenes. Con estos fines surgieron las ramas de la Genética Poblacional y de la Genética Biométrica, respectivamente.

La base teórica de la que partieron dichas ramas quedó establecida con la Ley del Equilibrio de las Poblaciones, enunciada de forma independiente (16, 17) y por otros trabajos (15, 18, 19, 20, 21). La Teoría de la herencia poligénica se enunció posteriormente (22).

¿Pero, dónde estaban los genes? Nuevamente, de forma independiente, ya se había observado (23, 24) la admirable coincidencia entre el patrón de comportamiento de los cromosomas durante la meiosis y el modelo de transmisión y recombinación de la herencia planteado por Mendel, así como la individualidad que mantenían los cromosomas durante este proceso. Las primeras evidencias experimentales confirmatorias de esta hipótesis se obtuvieron del estudio de la herencia de características ligadas al sexo en insectos.

Fue esta la primera hipótesis sobre la base material de los genes, por lo que se puede decir que los trabajos pioneros en el mapeo físico de los genes se efectuaron al nivel celular. Un nuevo campo de las investigaciones celulares se iba a desarrollar, la Citogenética. Del conjunto de trabajos de Morgan (25, 26, 27, 28) resultaría años después la llamada "Teoría Cromosómica de la Herencia".

Es fácil comprender que a pesar de todo el acierto del modelo

mendeliano, este comenzó tempranamente a acumular excepciones. En 1905 se demostró que la segregación de los genes no siempre era al azar y que las combinaciones parentales en una progenie podían aparecer en número superior que las recombinantes (29). Morgan dio la explicación basada en que los genes así «ligados» estaban localizados en el mismo cromosoma (ligamiento) y que la recombinación entre estos era el resultado de un entrecruzamiento (*crossing over*) entre cromosomas homólogos (recombinación intracromosómica); la segregación independiente de Mendel era pues una recombinación intercromosómica y rezaba sólo para los genes en cromosomas homólogos diferentes.

Sturtevant (39) fue más allá con dicho argumento y señaló: que la proporción de individuos recombinantes podía indicar la distancia de los genes, lo cual suponía que los genes se disponían linealmente a lo largo de los cromosomas; que las distancias entre sí eran aditivas, lo cual suponía la continuidad del material genético; siendo esto así, las posiciones relativas de los genes podían ser representadas en un mapa lineal. Con esto nació el mapeo de genes mendelianos, en cuya base teórica se sustentan también los actuales trabajos de mapeo de marcadores moleculares.

La primera evidencia física del entrecruzamiento fue a nivel citológico en maíz (31); ellos demostraron la asociación entre el entrecruzamiento genético y el intercambio físico de segmentos entre cromosomas homólogos. Se debe a Mc Clintock el primer mapa de caracteres morfológicos del maíz.

Este período culmina con el descubrimiento del ácido desoxirribonucleico (ADN), como el componente de la nucleoproteína responsable de la transmisión hereditaria y la evidencia conclusiva en la bacteria *Diplococcus pneumoniae* (32, 33); y con la formulación de la primera hipótesis sobre la función génica (34, 35), que basada en los estudios

comparativos, bioquímicos y genéticos, en mutantes nutricionales del moho del pan (*Neurospora crassa*) se postulaba que cada gen controlaba la síntesis de una proteína de actividad catalítica: un gen una enzima.

El segundo período (1945-1969) estuvo dominado por los estudios en virus y bacterias, que dieron lugar al conocimiento de la estructura del material hereditario y con esto a la Genética Molecular; con la evidencia acumulada de los estudios genéticos en varios organismos se descompuso el gen en tres tipos de unidades, cistrón, mutón y recons, definidas en términos de ADN; y se formuló la primera teoría de la expresión génica: un gen (un cistrón)-un polipéptido. La relevancia y universalidad de estos conocimientos sentaron las bases para el desarrollo científico y tecnológico desde una dirección inversa, del genotipo al fenotipo molecular.

Entre los resultados decisivos obtenidos en este período que dieron al traste con la unicidad del gen clásico estuvieron: el descubrimiento de la recombinación intragénica, por la cual los alelos de un gen podían pasar a un mismo gameto (36) en *Drosophila* y en mutantes auxótrofos de *Aspergillus nidulans* (37); y de la complementación intragénica por la cual en casos excepcionales dos alelos de un mismo gen podían complementarse (mejorar su función), según evidencias anteriores en *Drosophila*, finalmente confirmadas en maíz (38).

¿Qué era entonces un gen y qué era un alelo? En 1952 se demostró que el gen como unidad de expresión fisiológica era mayor que las unidades de recombinación o mutación (39), las cuales podían ser más de una en su interior. Del conjunto de trabajos de la época, en los que se destacaron los del análisis genético de la estructura fina de la región II del fago T4 (40, 41, 42, 43), se estableció el nuevo concepto del gen como unidad funcional (cistrón) codificadora de la síntesis de un polipéptido y compuesto por unida-

des de mutación (mutons) y de recombinación (recons), de uno o varios nucleótidos.

En tanto esto sucedía, se presentaban los resultados que conformarían la base científica de la Genética Molecular: en 1953 se propuso el modelo de la doble hélice del ADN (44, 45); posteriormente se enunció la hipótesis de la colinearidad consistente, en que la secuencia de nucleótidos del ADN (46, 47) determina la secuencia de aminoácidos del polipéptido (un cistrón-un polipéptido). En 1958 se formuló el Dogma de la Biología Molecular (48), que postulaba que la información génica del ADN pasaba al ARN (transcripción) y de este a proteínas (traducción), apoyado en la hipótesis de un gen-un ARN mensajero (49), o lo que es igual, un gen-una unidad de transcripción; las hipótesis anteriores se confirmaron al descifrar el Código Genético (50, 51, 52).

Durante este período, las plantas continuaron siendo objeto de estudio de la Genética Clásica, como por ejemplo el descubrimiento de elementos móviles (53, 54), que cambiaban de grupos de ligamiento en los análisis genéticos realizados en maíz, a los que se les llamó elementos controladores y cuya presencia en bacterias se confirmaría años después, llamándoseles transposones. Se construyeron mapas génicos de tomate, maíz y trigo, mediante una combinación de análisis genético clásico y de estudios en materiales con aberraciones cromosómicas de forma y número (55, 56, 57, 58).

Los avances más significativos en estas especies se obtuvieron en el campo de la Genética Cuantitativa, impulsados por las necesidades del mejoramiento de variedades. Se alcanzó un notable desarrollo de los modelos genético-estadísticos para descomponer la varianza fenotípica, para la selección y el uso del vigor híbrido en plantas y animales a partir de los trabajos realizados por otros autores (22, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68).

Por otra parte, el carácter hereditario de la resistencia a las enfermedades había quedado establecido por los trabajos en la roya amarilla del trigo (69); sin embargo, la caracterización adecuada de los fitopatógenos había retardado este tipo de estudios.

Se confrontaba un problema: las variedades en algunos casos «perdían la resistencia». En ocasiones de forma permanente, en otras, esta pérdida dependía del lugar de cultivo.

Flor (70, 71, 72) formuló la Teoría de Un Gen para Un gen, explicando en términos de la interacción entre los genotipos del huésped y el del patógeno la aparente «pérdida» de la resistencia varietal. Esta ocurría por el predominio en la población del patógeno de individuos con genes virulentos que contrarrestaban el efecto de los genes de resistencia presentes en la planta. Una década después, los conceptos epidemiológicos de la resistencia genética (vertical y horizontal) fueron enunciados (73, 74) poniendo de manifiesto la necesidad de analizar dicha interacción a nivel poblacional y en función del tiempo de duración de la epidemia. Con esto se sentaron las bases para la durabilidad de la resistencia en función del mejoramiento y del ulterior manejo varietal.

Es así que en este período se reunieron los conocimientos genéticos en que se basaron los programas de selección de plantas que obtendrían las primeras variedades e híbridos comerciales de alta productividad y resistencia a enfermedades, protagonistas de la Revolución Verde.

El tercer período (1970-) o historia reciente del gen, en mi opinión no se ha terminado, forma parte más bien de una nueva era de la Genética. Dominado por el uso de las tecnologías moleculares para la caracterización y manipulación del ADN, los resultados de estos estudios están en plena fase acumulativa, por lo que el concepto moderno de gen deberá esperar. El desarrollo de

nuevas tecnologías y medios de laboratorio ha sido también impresionante. Recordemos que apenas tres décadas atrás, se descubrieron las enzimas de restricción en *Escherichia coli* (75, 76), que hicieron posible trabajar directamente sobre el material hereditario.

El empleo de estas técnicas en un contexto integral, del fenotipo externo al ADN y del fenotipo molecular al ADN, ha dado un impulso insospechado al conocimiento de los organismos superiores, hasta entonces prácticamente desconocidos genéticamente, como el Hombre y varias especies alimentarias importantes.

Al comienzo de este nuevo milenio se sabe que hay «genes clásicos» que producen un solo transcrito, a pesar de que este en la mayoría de los eucariotes no guarda la colinearidad esperada con el ADN, por presentar secuencias silentes (intrones) entre las secuencias activas (exones) y que otros muchos producen más de un transcrito por diferentes mecanismos.

Al conocerse la secuencia completa del ADN de cromosomas en diferentes organismos, incluida la planta *Arabidopsis thaliana*, el modelo cromosómico se ha ido perfilando. En general, puede decirse que si bien la molécula de ADN es continua de telómero a telómero, los genes se localizan en grupos espaciados por uno o más bloques de secuencias repetitivas de función mayormente desconocida, que en algunos organismos pueden constituir la mayoría del genoma.

Todos los genes no tienen una localización fija en el cromosoma. Estos elementos móviles por su mecanismo de acción son de dos tipos y actúan como verdaderos agentes mutagénicos, al inactivar o alterar la función génica en su sitio de reinserción y, en el caso de los transposones ADN, provocan también transposiciones de secuencias aledañas en el momento de su excisión. El hombre ha aprendido a emplearlos en el mapeo de genes; un buen ejemplo de esto es el tomate.

La Genética Biométrica ha alcanzado su mayoría de edad con el desarrollo de modelos genético-estadísticos en cuatro áreas principales: genética poblacional, estimación de componentes de varianza entre parientes, análisis de segregación y mapeo génico. Nuevas especialidades han surgido: por ejemplo, la Citogenética Molecular, la Genómica, la Bioinformática, la Proteómica y la Biometría Regulatoria.

LA GENÉTICA MOLECULAR DE PLANTAS

En el caso de las especies vegetales, las tecnologías del ADN revolucionaron el conocimiento genético a partir de la última década. La descripción de la técnica del Polimorfismo de la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP) marcó el inicio de proyectos en gran escala de mapeo con marcadores moleculares (77). Una segunda generación de marcadores basados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) resultó en sistemas que impulsaron de inicio los estudios de diversidad (78). Entre 1993 y 1994 se informaron los primeros mapas de marcadores de unas 30 especies. La verdadera revolución en el mapeo genético se alcanzaría en 1995 con el uso conjunto de RFLPs y de los sistemas AFLP (79) y SSR (microsatélites), de alto polimorfismo y repetibilidad (80); y más recientemente, marcadores basados en diferentes tipos de retrotransposones (81, 82). En la actualidad alrededor de 60 especies cuentan con algún mapa de marcadores y dos plantas modelo han sido secuenciadas: la dicotiledónea *Arabidopsis thaliana* (400 Mpb) y el arroz (*Oryza sativa*) (430 Mpb), como monocotiledónea.

Entre los factores que han contribuido a este desarrollo pueden considerarse: la posibilidad de analizar familias experimentales de diferentes diseños genéticos, en muchos casos con replicación; el rápido desarrollo tecnológico derivado del Proyecto Genoma Humano; el aprovechamiento de la alta homolo-

gía entre especies; el hecho de que el incremento en tamaño genómico se produce por expansión del número de copias de diferentes tipos de secuencias repetitivas (>50 % del genoma) y no del contenido génico; el desarrollo de modelos genético-estadísticos para el mapeo de poliploides, que representan cerca de la mitad de las Angiospermas; el desarrollo de proyectos masivos de mapeo y secuenciación de las plantas modelo antes mencionadas; la colaboración internacional en la concepción y ejecución integrada de estas investigaciones (Figura 1).

el trigo (>15000 Mpb), el sorgo (750 Mpb), la caña de azúcar (>20000 Mpb) y, duplicados, en el maíz (>20000 Mpb). En estos se encuentran la mayoría de los genes comunes en estas especies.

Otros ejemplos lo constituyen las solanáceas y las leguminosas. Entre estas, el tomate y sus parientes silvestres (*Lycopersicon* spp.) fungen como modelo de estudio de los procesos de fructificación; el género *Phaseolus*, con un patrón de evolución bien estudiado, se emplea en estudios de la evolución genómica. La alfalfa y otras especies *Medicago* spp. son utilizadas en el estudio de la nodulación, tomando como modelo *Lotus japonicus* (400 Mpb).

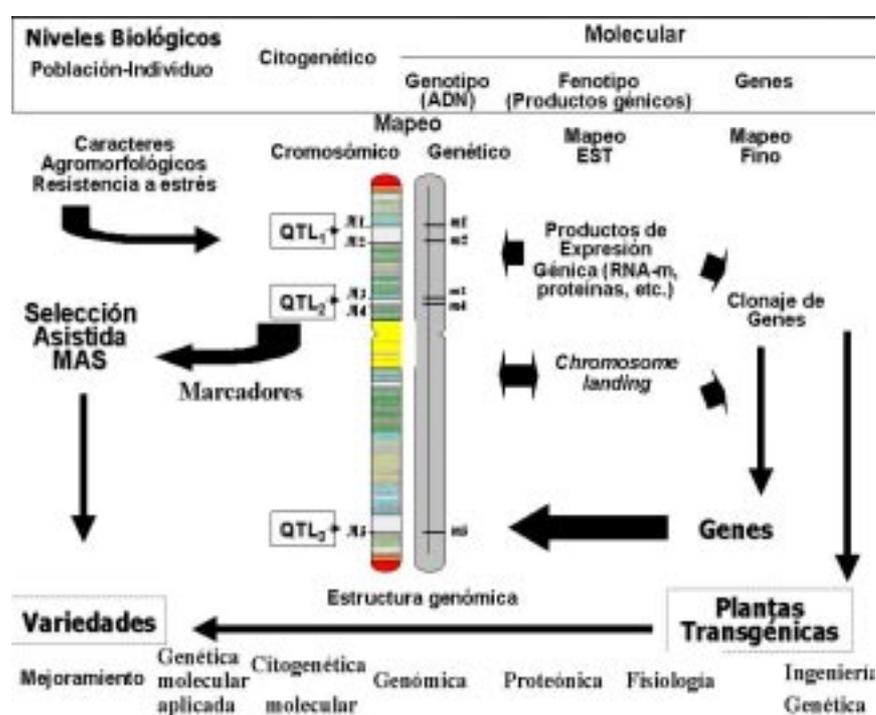


Figura 1. Estrategia de trabajo de la genómica de plantas

Con este enfoque, por ejemplo, se logró que la mayoría de los cereales importantes contaran con un mapa genético en la primera mitad de los años noventa. Por comparación de genomas se escogieron marcadores comunes y se aceleró la saturación de las principales regiones, primeramente con *RFLPs* y después con otros marcadores de alto volumen de polimorfismo en las especies menos conocidas. Se encontró que 12 segmentos de ligamiento presentes en el arroz (430 Mpb) se conservaban en

El objetivo principal del mapeo genético en estas especies es el marcaje de caracteres de interés al mejorador para hacer más efectiva su selección. Si el carácter a marcar es de herencia mendeliana, se sigue un procedimiento similar al de un marcador molecular. Si este es cuantitativo, es posible localizar las regiones cromosómicas en que se encuentran los poligenes que lo controlan (*QTLs*), por asociación del valor fenotípico del carácter de cada uno de los individuos estudiados con sus patrones de bandas para los marcadores

(del fenotipo externo al ADN). Existen varios métodos, pero el más conveniente es utilizar los marcadores mapeados con anterioridad. Se determina entonces el aporte de cada *QTL* a la expresión fenotípica del carácter y si se dispone de evaluaciones replicadas, por ejemplo, en diferentes localidades y épocas, es posible también valorar la estabilidad del aporte de cada *QTL*.

Un carácter exitoso para la selección asistida por marcadores moleculares (*MAS*) es aquel en el que participan pocos *QTLs* de efecto alto. Un buen marcador debe estar lo más cerca posible del *QTL* marcado, a fin de que no puedan ser separados por entrecruzamiento (<5 %). Mejor aún, si se dispone de un par de marcadores en posición *cis* que delimiten el intervalo donde está el *QTL* y que la presencia de sus bandas indiquen con certeza la del alelo favorable del *QTL*.

Un alelo favorable de un *QTL* es aquel que contribuye en alta proporción y en la dirección deseada a la expresión del carácter. Por ejemplo, que aporte un 75 % a favor del aumento del peso del fruto en el tomate, o un aporte similar a la disminución de la severidad de ataque de una enfermedad.

El mapa genético de una especie debe ser válido para la mayoría de sus individuos, pero los alelos presentes de cada *QTL* pueden variar mucho más. Esto hace que el aporte de cada *QTL* y su estabilidad ambiental deban ser probados para cada progenitor o fuente genética cuya descendencia se desee seleccionar por estos marcadores.

La segunda aplicación importante de estos trabajos consiste en dirigir el clonaje de genes hacia las zonas donde estos se concentran. Para esto los mapas genéticos tienen que estar altamente saturados (<1 % recombinación). Esta estrategia se conoce como «aterrizaje cromosómico» (83). Los marcadores mapeados pueden ser usados como sondas en librerías *BAC* o de secuencias expresadas (*ESTs*) para marcar la localización de los genes de interés y clonarlos.

La construcción de librerías *EST* en las plantas de genoma grande posibilita complementar el trabajo anterior, al dirigir la búsqueda de genes a los procesos de mayor interés en cada una de estas especies mediante el estudio comparativo de los patrones de expresión en diferentes tejidos y ambientes, para proceder después al mapeo (del fenotipo molecular al ADN) de las secuencias diferenciales.

Como una necesidad para interpretar la función de los genes mapeados y secuenciados en los proyectos en gran escala, se propuso el término de proteoma para designar el conjunto de proteínas expresadas por el genoma. Este estudio permitirá: enlazar el metabolismo celular con los mapas; realizar el estudio de los procesos fisiológicos importantes de la planta, hoy poco conocidos; acelerar el mapeo de genes expresados y hacer la identificación de genes reguladores.

¿Cómo localizar en la célula estos grupos de genes? Las técnicas de hibridación *in situ* en preparaciones citológicas, desarrolladas hace más de tres décadas a partir de trabajos previos (84, 85) han ayudado a dar esa respuesta; se emplean en el mapeo cromosómico de secuencias de ADN, y con ello de genes y grupos de ligamiento; han permitido reconocer la estructura del genoma de especies híbridas y la ocurrencia de recombinación entre estos.

El mejorador realiza cruces interespecíficos, a veces más lejanos aún, para introducir nuevos genes (introgresión). Estos híbridos son con frecuencia inestables y su fenotipo no permite detectar la presencia del gen deseado. La disponibilidad de marcadores que identifiquen el cromosoma portador y el conocimiento de una integración por recombinación de sus genes en la especie receptora son de gran utilidad para la selección asistida en estos programas. El análisis del material por hibridación *in situ* con estos marcadores facilita la aplica-

ción masiva de la selección asistida en la introgresión.

La integración de la cuantiosa información proveniente de marcadores, secuencias, contigs, genes, proteínas y fenotipo externo es un paso determinante en la eficiencia de estas investigaciones; de ahí la importancia creciente de la Bioinformática.

LA GENÉTICA VEGETAL Y EL MEJORAMIENTO DE LOS CULTIVOS

La salida productiva más importante económica y socialmente de las investigaciones genéticas son las variedades. Analizando la evolución de las variedades mejoradas, es posible apreciar de conjunto el impacto de esta actividad.

El hombre fabricaba empíricamente sus variedades desde tiempos inmemoriales utilizando un procedimiento muy sencillo: elegía los individuos portadores de los caracteres deseables (progenitores) y los cruzaba entre sí, seleccionando en su descendencia los individuos «élites». En otros casos no era posible efectuar los cruces, entonces se reducía la mejora a utilizar los individuos promisorios encontrados y a reproducirlos vegetativamente. Aún hoy se procede así.

La Genética Vegetal le ofreció al mejorador los conocimientos para hacer más eficiente este trabajo; permitió calcular la contribución a la variación fenotípica de los componentes genético, ambiental y de la interacción entre ambos. Esto permitió escoger para la selección las características con mayor aporte genético y velar cuidadosamente por el manejo varietal en el caso de los caracteres cuya expresión dependiera altamente de esta interacción.

En general, puede decirse que los primeros caracteres en mejorar fueron los asociados al rendimiento agrícola, seguidos por los del rendimiento industrial o la calidad comercial, la resistencia a enfermedades y plagas, la tolerancia a las condiciones adversas y, por último, los

asociados a la diversificación de productos agrícolas. Esto refleja las principales dificultades que han tenido que vencer las variedades durante el pasado siglo.

El enfoque con el cual se han manejado estos criterios de mejora también ha variado con el decursar del tiempo. Puede considerarse un primer período (1900-1944), durante el cual se obtuvieron variedades de adaptación general o amplia, que culminó con un notable incremento de la producción agrícola en los países de agricultura desarrollada. El ejemplo más conocido fueron los híbridos dobles de maíz que durante la década de 1933-1944 acapararon la estructura varietal en Estados Unidos (80 %) y elevaron el rendimiento promedio en más de un 20 %.

Durante el período siguiente (1945-1969), en la medida que se incrementaron las áreas de cultivo y con estas, las diferentes condiciones de explotación, se aumentaron los requisitos varietales y sus umbrales, y las variedades pasaron a ser un producto altamente especializado, de adaptación específica o local. A pesar de esto, en algunos cereales se duplicó la productividad. Este aumento descansaba en varios factores, entre los cuales la variedad tenía un papel importante. Eran variedades con adaptación específica a ambientes favorables, esto es, altamente dependientes para la explotación de su potencial genético del suministro de insumos, que como el riego, los fertilizantes, los pesticidas y los herbicidas creaban dichas condiciones en donde se les pudiera suministrar.

A fines de los años cincuenta, las variedades de trigo y arroz, principalmente, fueron introducidas en varios países de Asia y América Latina, con un resultado tan espectacular que se conoció como la "Revolución Verde".

Estamos en el tercer período (1970-?) del mejoramiento, en el que no se han producido aún saltos cualitativos importantes del potencial de rendimiento. Por otra parte, se presenta la necesidad de buscar alter-

nativas a los productos agrícolas de cultivos con alta capacidad instalada. Por ejemplo, la caña de azúcar.

La casi totalidad de las variedades modernas provienen del mejoramiento tradicional. Otros métodos tales como la inducción de mutaciones, el aprovechamiento de la variación somaclonal sola o combinada con la anterior y la transferencia de genes foráneos por Ingeniería Genética se han usado con resultados puntuales. Estos han sido empleados en la mejora para caracteres específicos, lo que posibilita extender la vida agrícola de buenas variedades.

Por otra parte, se sabe que una de las mayores limitantes del incremento del potencial productivo de las variedades modernas es la reducida base genética con que trabajan los mejoradores. Se impone la búsqueda de nuevos genes y el mejor aprovechamiento de la diversidad genética disponible. Es con estos fines que el empleo de marcadores del polimorfismo del ADN (marcadores moleculares) y las nuevas generaciones de construcciones transgénicas tendrán su mayor repercusión productiva inmediata.

EL SIGLO XXI

Las primeras aplicaciones de los marcadores moleculares en el mejoramiento han sido en la recomendación de fuentes por su diversidad genética y en la identificación de accesiones para el manejo conservacionista de los recursos fitogenéticos.

El fenotipo es un indicador poco preciso del genotipo, mucho más si se trata de formas silvestres, frecuentemente híbridas, en las que los caracteres botánicos aparecen mezclados dificultando su identificación. La caracterización de materiales de interés mejorador en fondos de diversidad molecular permite complementar los caracteres fenotípicos en la elección de progenitores, aprovechando mejor la variabilidad presente y determinar estrategias para el completamiento y la conservación

de las colecciones. La estimación de la diversidad genética entre y dentro de poblaciones naturales, posibilita conocer el grado de diferenciación y erosión genética. Con el clonaje de los primeros genes vegetales, esta evaluación se ha hecho doblemente útil, ya que permite agrupar los genotipos por su diversidad genética a nivel genómico y por la presencia de genes útiles. Entre otras aplicaciones en desarrollo están la determinación de la tasa de fecundación cruzada y del riesgo genético por vía sexual entre éstas.

La utilidad de estos marcadores en la identificación individual de accesiones ha sido demostrada y no hay duda que jugarán un papel determinante en los arbitrajes de propiedad intelectual en el futuro, en cuanto se acuerde una definición en términos genéticos más precisos de las condiciones vigentes de nueva variedad (independiente) y variedad esencialmente derivada (*EDV*).

Desde mediados de la pasada década se inició la Selección Asistida (*MAS*) para diferentes caracteres, como la resistencia a enfermedades; hay informes exitosos de su empleo en programas de introgresión. No obstante esto, la aplicación en gran escala queda aún para el futuro.

El aislamiento de genes asistidos por mapas (clonaje posicional o aterrizaje cromosómico) se ha efectuado en varios casos y se puede decir que se encuentra en una etapa más avanzada de aplicación. Con el desarrollo de los sistemas de polimorfismo de tercera generación, que permiten su automatización, tales como los basados en oligonucleótidos y nucleótidos simples (*SNPs*), se espera alcanzar el nivel de masividad requerida en los análisis, tanto para la aplicación exitosa en *MAS*, como para el clonaje génico en estas especies.

De cara al presente siglo, las especies vegetales cultivadas y sus parientes silvestres, protagonizarán un salto científico notable y sus aplicaciones tendrán repercusiones decisivas para el desarrollo económico y social. No por casualidad co-

nocidas transnacionales químicas y farmacéuticas vienen haciendo inversiones en el sector de las semillas desde la década pasada.

De inmediato, el mayor reto práctico para el mejoramiento consiste en aplicar los resultados de las investigaciones con marcadores y genes vegetales para elevar la productividad agrícola. En el caso de la selección por marcadores moleculares, contribuirán a ello la disponibilidad de marcadores estables y de tecnologías masivas, automatizables, menos costosas, así como la aceptación de los nuevos métodos por parte de los mejoradores. No obstante esto, se perfila como una alternativa más inmediata puesto que para el éxito de las plantas transgénicas portadoras de genes vegetales, parecen tener mayor importancia la elección del objetivo de su empleo y la aceptación de los nuevos productos por sus consumidores. A esto último, contribuirá la estimación precisa del impacto ambiental y en la salud, de estos productos, en relación con los obtenidos por métodos tradicionales, información que no se conoce en muchos casos.

Un poco más allá en el futuro y siguiendo las tendencias de desarrollo de la Genética durante su primer siglo de existencia se prevén muchos retos científicos, porque las especies también lo son. Cabe esperar que se formularán modelos e hipótesis válidas para grupos de plantas con características comunes.

En el campo de la Genómica, las tendencias actuales hacia el uso de técnicas más precisas de análisis del ADN y su automatización, y la integración de la información proveniente de diferentes niveles biológicos continuarán. Los modelos genético-estadísticos para el mapeo genético mejorarán en precisión, en particular, los modelos aplicables a especies poliploides, para sacar mayor provecho a la información disponible y se desarrollarán otros, para el estudio de la evolución de familias de genes en grupos taxonómicos importantes. Se necesitarán méto-

dos multivariados potentes para describir genéticamente las especies dentro de cada ecosistema, predecir cambios y diseñar políticas para su conservación y métodos de meta-análisis para procesar grandes volúmenes de información, entre otros.

El milenio finalizó con un concepto plano de la célula, que apenas ha comenzado a cobrar su tercera dimensión. Se habla ya de arquitectura genómica y de sus implicaciones en la regulación génica, basadas en observaciones experimentales recientes. Habrá, sin duda, una evolución de los modelos de regulación génica en plantas que ganarán también en dimensión. Esto requerirá del desarrollo de nuevos métodos de análisis y de interpretación.

Recientemente, se logró la transferencia y expresión múltiple exitosa de genes vegetales mediante Ingeniería Genética. Ante la disponibilidad creciente de genes, su transferencia múltiple, tal como la concebimos hoy, tendrá que cambiar. El conocimiento de la estructura cromosómica se halla en plena expansión. Los métodos para identificar y manipular cromosomas serán perfeccionados. Será posible utilizar cromosomas u otros vectores para transferir a la vez varios genes y extender la terapia genética a las plantas, con una menor interrupción de las funciones propias de la especie. Se hará realidad la Ingeniería Cromosómica.

El mejoramiento vegetal contará con más métodos y genes. Continuará la tendencia actual hacia la automatización de la toma de datos en campo. La selección con marcadores moleculares se implantará de forma masiva y será la primera vía disponible de selección genotípica directa en plantas. Se aprovechará mejor la diversidad al seleccionar a la vez varias características que hoy se evalúan en momentos diferentes, o bien, en paralelo, por ser pruebas destructivas, como la resistencia a las enfermedades. Como resultado, los programas de introducción de

genes de fuentes silvestres se acortarán notablemente, en tanto que los de variedades comerciales obtendrán un mayor número de nuevas variedades por ciclo. El potencial genético de las variedades aumentará a saltos.

El estudio del sistema reproductivo de las plantas permitirá controlar los cruzamientos en la mejora y el riesgo en la explotación de plantas transgénicas. El conocimiento de los mecanismos de defensa de las plantas permitirá obtener una resistencia a agentes patógenos más estable, y prevenir, detectar y contrarrestar amenazas biológicas con mayor precisión. El mejorador del siglo XX ha trabajado con los mecanismos de la microevolución; el del siglo actual, lo hará cada vez más con los de la macroevolución, porque se acumularán tantos cambios genéticos que se obtendrán plantas nuevas, aún cuando se usen sólo genes vegetales. Las investigaciones de mapeo y de la evolución genómica harán posible el diseño genético automatizado de las variedades y de los esquemas para su explotación. Con un mejor conocimiento de la regulación génica por factores ambientales externos, se delimitará de forma precisa la frontera entre lo genético y lo epigenético, lo heredable y lo modificable, el mejoramiento y el manejo varietales.

La diversificación agrícola y económica de los cultivos actuales, que tanto nos apremia, se extenderá a otras esferas porque cambiarán los hábitos alimentarios, y se abrirán mercados para nuevos productos; surgirán problemas a resolver, en algunos casos mediante plantas con nuevas propiedades. Por ejemplo, especies con capacidad descontaminante, especies simbióticas de microorganismos valiosos en peligro. Habrá, quizás, un mejoramiento genético y un manejo de plantas para la conservación del ambiente, que para entonces habrá ganado en prioridad como factor de riesgo para la vida en el planeta.

La erosión genética producida por nuestros métodos de selección rudimentarios es ya alarmante, por lo que cabe esperar que la selección por marcadores moleculares, la Ingeniería Genética y las nuevas tecnologías que surjan, acelerarán este efecto. Habrá que diseñar programas para diversificar el fondo genético de las nuevas variedades, auxiliado por modelos genéticos que permitan predecir las combinaciones alélicas más favorables, a la vez que diversas. El concepto de *alelo favorable*, hoy tan preciso, se diversificará, de forma similar a lo que ha ocurrido ya, en pocos años, con el concepto de gen. En una primera etapa, los nuevos métodos de mejora utilizarán pocos genes con grandes aportes en una dirección (selección direccional), para elevar la expresión deseada de un carácter, por ejemplo, aumentar el contenido en sacarosa, el número de frutos, etc. En la medida en que se conozcan las interacciones génicas, habrá que seleccionar también para mantener un fondo de diversidad a bajo nivel de expresión, acumulando muchos genes favorables de pequeño efecto (selección estabilizadora). Se tendrá un dominio mayor de aquellos genes cuyas funciones se debe activar y los que se debe silenciar.

El financiamiento para la conservación y las bases para la utilización de las variedades, genes y demás medios biológicos de uso en investigaciones y en la mejora vegetal, constituirá un grave problema y tendrá que ser contemplado por el derecho internacional, puesto que al ser estos el producto de proyectos financiados en buena parte por capital privado de diferentes procedencias, las regulaciones que se establezcan en torno a la protección intelectual serán determinantes para alcanzar una repercusión social global y efectiva.

La otra parte de los recursos vegetales que no estén ligados de forma inmediata a la obtención de productos comerciales, tales como las viejas variedades y parte de la flora, tendrán que ser mejor custo-

diadas, fomentándose una mayor participación de la comunidad en la conservación de su localidad.

CONSIDERACIONES FINALES

Si durante la última década del siglo pasado las grandes fortunas se crearon en la informática, las telecomunicaciones y en internet, durante las primeras décadas del presente siglo, el conocimiento y los medios para el control del código genético será un factor decisivo de la economía mundial y una fuente de conocimientos para la conservación o la destrucción de la vida en nuestro planeta.

En general, habrá cambios importantes en la agricultura de los países desarrollados, un progreso relativo en aquellos en vías de desarrollo, que sean capaces de asimilar racionalmente las nuevas tecnologías y un desarrollo paulatino de la conciencia social, producto de un proceso muy contradictorio a lo largo del cual los científicos ocuparán un lugar decisivo en la función social de su trabajo. Al constituir el conocimiento biológico un centro de la economía y ser centro de la vida, se modificará la frontera actual entre la responsabilidad técnica y la responsabilidad social del trabajo de los científicos. En correspondencia con estas necesidades, el derecho internacional tendrá que evolucionar en materia de propiedad intelectual y de conservación ambiental. Sólo así los conocimientos y las nuevas tecnologías que surjan en este campo podrán constituir un factor de progreso para la Humanidad.

REFERENCIAS

1. Johannsen, W. Elemente der exakten Erblchkeitslehre. Jena. Gustav Fischer. 1909
2. Mendel, G. Versuche über Pflanzenhybriden. Abhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn 4, 3-47. Traducción inglesa (1901). *Journal of the Royal Horticultural Society*, 1865, vol. 26, p. 1-32.

3. Correns, C. G. Mendels Regel über das Verhalten der nachkommenschaft der Rassenbastarde. *Berl. Deut. Bot. Gesells*, 1900, vol. 18, p. 158-168.
4. De Vries, H. Das Spaltungsgesetz der bastarde. *Berl. Deut. Bot. Gesells*, 1900, vol. 18, p. 83-90.
5. Von Tschermak, E. Über künstliche Kreuzung bei *Pisum sativum*. *Berl. Deuts. Bot. Gesells*, 1900, vol. 18, p. 232-239.
6. Darwin, C. The Origin of Species. 6. ed. Murray, 1872.
7. De Vries, H. Die Mutationstheorie. Leipzig. Veit, 1901.
8. Muller, H. J. Variation due to change in the individual gene. *American Naturalist*, 1922, vol. 56, p. 32-50.
9. Muller, H. J. Mutation. *Eugenesis Genetics Family*, 1923, vol. 1, p. 106-112.
10. Davenporta, C. B. Degeneration, albinism and inbreeding. *Science*, 1908, vol. 28, p. 454-455.
11. Bruce, A. B. The Mendelian theory of heredity and the augmentation of vigor. *Science*, 1910, vol. 32, p. 627-628.
12. Keeble, F.; Pellew, C. The mode of inheritance of stature and of time of flowering in peas (*Pisum sativum*). *Jour. Gen.*, 1910, vol. 1, p. 47-56.
13. Nilsson-Ehle, H. Kreuzungsuntersuchungen an Hafer und Weizen. *Acta Universitatis Lund*, 1909, Serie 2,5, no. 2, p. 1-122.
14. East, E. M. A Mendelian interpretation of variation that is apparently continuous. *Am. Nat.*, 1910, 44, p. 65-82.
15. Fisher, R. A. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. *Transcripts of the Royal Society of Edinburgh*, 1918, vol. 52, p. 399-433.
16. Hardy, G. H. Mendelian proportions in a mixed population. *Science*, 1908, vol. 8, p. 49-50.
17. Weinberg, W. Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen. *Jahreshefte des Vereins für vaterländische naturkunde in Württemberg*, 1908, vol. 64, p. 368-382.
18. Fisher, R. A. The Genetical Theory of Nature Selection. 1930.
19. Wright, S. Correlation and causation. *Journal of Agricultural Research*, 1921, 20, p. 557-585.

20. Wright, S. Systems of mating. *Genetics*, 1921, vol. 6, p. 111-178.
21. Haldane, J. B. S. The Causes of Evolution. 1921.
22. Mather, K. Biometrical Genetics. Methuen. 1949.
23. Boveri, T. Über die Konstitution der chromatischen Kernsubstanz. *Verh. Dtsch. Zool. Ges.*, 1903, vol. 13, p. 10-33.
24. Sutton, W. S. The chromosomes in heredity. *Biological Bulletin* (Woods Hole), 1903, vol. 4, p. 231-251.
25. Morgan, T. H. The application of the conception of pure lines to sex-limited inheritance and to sexual dimorphism. *American Naturalist*, 1911, vol. 45, p. 65-78.
26. Morgan, T. H. The physical basis of heredity. New Haven. Yale University Press, 1919.
27. Morgan, T. H. The Theory of the Gene. New Haven. Yale University Press, 1926.
28. Morgan, T. H.; Sturtevant, A. H.; Muller, H. J.; Bridges, C. B. The mechanism of Mendelian heredity. New York. Henry Holt, 1915.
29. Bateson, W.; Saunders, E. R.; Punnett, R. C. Experimental studies in the physiology of heredity. *Rep. Evol. Comm. R. Soc.*, 1905, vol. 2, no. 1-55, p. 80-99.
30. Sturtevant, A. H. The linear arrangement of the six sex-linked factors in *Drosophila*, as shown by their mode of association. *Journal of Experimental Zoology*, 1913, vol. 14, p. 43-59.
31. Creighton, H. B.; McClintock, B. A correlation of cytological and genetical crossing-over in *Zea mays*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1931, vol. 17, p. 1274-1278.
32. Knapp, E.; Schreiber, H. Quantitative analyse der mutationsauslösenden Wirkung monochromatischen UV-Lichtes in Spermatozoiden von *Sphaerocarpus*. En: Proceedings of the 7th International Congress of genetics (7:1939:Cambridge). Edinburgh. Cambridge University, 1939, p. 175-176.
33. Avery, O. T.; Macleod, M. C.; McCarty, M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a deoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcal Type III. *J. Exp. Med.*, 1944, vol. 79, p. 137-158.
34. Beadle, G. W.; Tatum, E. L. Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1941, vol. 27, p. 499-506.
35. Srb, A. M.; Horowitz, H. H. The ornithine cycle in *Neurospora* and its genetic control. *Journal of Biological Chemistry*, 1944, vol. 154, p. 129-139.
36. Oliver, P. A reversion to wild type associated with crossing over in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1940, vol. 26, p. 452-454.
37. Roper, J. A. Search for linkage between genes determining a vitamin requirement. *Nature*, 1950, vol. 166, p. 956.
38. Laughan, J. R. The action of allelic forms of the gene A in maize. I. Studies of variability, dosage and dominance relations. The divergent character of the series. *Genetics*, 1948, vol. 33, p. 488-517.
39. Pontecorvo, G. The genetic formulation of gene structure and action. *Advanced Enzymology*, 1952, vol. 13, p. 121-149.
40. Benzer, S. Fine structure of a genetic region in bacteriophage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1955, vol. 41, p. 344-354.
41. Benzer, S. The elementary units of heredity. En: The Chemical Basis of Heredity. Baltimore. The John Hopkins University Press, 1957, p. 70-93.
42. Benzer, S. On the topology of the genetic fine structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1959, vol. 45, p. 1607-1620.
43. Benzer, S. On the topography of the genetic fine structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1961, vol. 47, p. 403-415.
44. Watson, J. D.; Crick, F. H. C. Molecular structure of nucleic acid. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 1953, vol. 171, p. 737-738.
45. Watson, J. D.; Crick, F. H. C. Genetic implications of the structure of deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 1953, vol. 171, p. 864-867.
46. Dounce, A. L. Duplicating mechanism for peptide chain and nucleic acid synthesis. *Enzymologia*, 1952, vol. 15, p. 503-507.
47. Gamow, G. Possible relation between deoxyribonucleic acid and protein structures. *Nature*, 1954, vol. 173, p. 318.
48. Crick, F. H. C. On protein synthesis. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 1958, vol. 12, p. 138-167.
49. Jacob, F.; Monod, J. Molecular and biological characterization of messenger RNA. *Journal of Molecular Biology*, 1961, vol. 3, p. 318-356.
50. Nirenberg, M. The Genetic Code. Scientific American, 1963, p. 80-94.
51. Ochoa, S.; Kornberg, A. En: The Nobel Prize Lectures in Physiology/Medicine. American Elsevier Publications. 1959.
52. Khorana, H. G. Nucleic acid synthesis in the study of the genetic code. En: The Nobel Prize Lectures in Physiology/Medicine, American Elsevier Publications. 1968, p. 1-4.
53. McClintock, B. Cytogenetic studies of maize and *Neurospora*. Carnegie Inst. Washington Year Book, 1947, vol. 46, p. 146-152.
54. McClintock, B. Mutable loci in maize. Carnegie Inst. Washington Year Book, 1948, vol. 47, p. 155-169.
55. Sears, E. R. Chromosome pairing and fertility in hybrids and amphidiploids in the *Triticinae*. Missouri Agricultural Experimental Station Research Bulletin, 337. 1941.
56. Sears, E. R. Nullisomic-tetrasomic combinations in hexaploid wheat. En: Chromosome manipulation in plant genetics. Edinburgh. Oliver and Boyd, 1966, p. 29-45.
57. Sears, E. R. Nullisomic analysis in common wheat. *American Naturalist*, 1953, vol. 87, p. 245-252.
58. Rick, C.; Barton, D. W. Cytological and genetical identification of the primary trisomics of the tomato. *Genetics*, 1954, vol. 39, p. 640-666.
59. Darlington, C. D. The Evolution of genetic Systems. Cambridge University Press. 1939.
60. Comstock R. E.; Robinson, H. F. Estimation of average dominance of genes. En: Heterosis. Ames, Iowa State College Press, 1952, p. 494-516.
61. Comstock R. E.; Robinson, H. F.; Harvey, P. H. A breeding procedure designed to make maximum use of both the general and specific ability. *J. American Soc. Agronomy*, 1949, vol. 41, p. 360-367.

62. Dobzhansky, T. Nature and origin of heterosis. En: Heterosis. Gowen, Ames, Iowa State College Press, 1952, p. 218-223.
63. Lerner, I. M. Genetic Homeostasis. Edinburgh-London. Oliver & Boyd. 1954.
64. Lerner, I. M. The Genetic basis of Selection. N. York-London. John & Wiley. 1958.
65. Falconer, D. S. Validity of the theory of genetic correlation. An experimental test with mice. *J. Heredity*, 1954, vol. 45, p. 42-44.
66. Falconer, D. S. Patterns of response in selection experiments in mice. Cold Spring Harbor Symposia of Quantitative Biology. 1955, vol. 20, p. 178-196.
67. Falconer, D. S. Introduction to Quantitative genetics. Edinburgh-London. Oliver & Boyd. 1960.
68. Kempthorne, O. An Introduction to Genetic Statistics. New York. Wiley. 1957.
69. Biffen, R. H. Studies on Inheritance in Disease Resistance II. Nucleic Acid Res., 23: 4407-4414. *J. Agric. Sci.*, 1912, vol. 4, p. 421-429.
70. Flor, H. H. Inheritance of pathogenicity in a cross between physiological races 22 and 24 of *Melampsora lini*. *Phytopathology Z.*, 1942, vol. 32, p. 5-12.
71. Flor, H. H. Genetics of pathogenicity in *Melampsora lini*. *J. Agric. Res.* 1946, vol. 73, p. 335-357.
72. Flor, H. H. Host-parasite interactions in flax rust, its genetics and other implications. *Phytopathology*, 1955, vol. 45, p. 680-685.
73. Van der Plank, J. E. Plant diseases: epidemics and control. New York. Academic Press, 1963.
74. Van der Plank, J. E. Disease resistance in plants. New York-London. Academic Press, 1968.
75. Linn, S.; Arber, W. Host specificity of DNA produced by *Escherichia coli*. X. *In vitro* restriction of phage fd replicative form. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1968, vol. 59, p. 1300-1306.
76. Meselson, M.; Yuan, R. DNA restriction enzyme from *E. coli*. *Nature*, 1968, vol. 217, p. 1110-1114.
77. Botstein, D.; White, R. L.; Skolnic, M.; Davis, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.*, 1980, vol. 32, p. 314-331.
78. Saiki, R. K.; Gelfand, D. H.; Stoffel, S.; Scharf, S.; Higuchi, R. H.; Horn, G. T.; Mullis, K. B.; Elrich, H. A. Primer-detected enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 1988, vol. 239, p. 487-491.
79. Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; Van de Lee, T.; Hornes, M.; Frijters, A.; Pot, J.; Peleman, J.; Kuiper, M.; Zabeau, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Research*, 1995, vol. 23, p. 4407-4414.
80. Zietkiewicz, E.; Rafalski, A.; Labuda, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 1989, vol. 20, p. 176-183.
81. Flawell, A. J.; Knox, M. R.; Pearce, S. R.; Ellis, T. H. N. Retrotransposon-based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis. *Plant Journal*, 1998, vol. 16, p. 643-650.
82. Kalendar, R.; Grob, T.; Scorese, A.; Schulman, A. H. IRAOP y REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theor. Appl. Gen.*, 1999, vol. 98, p. 704-711.
83. Tanksley, S. D.; Ganai, M. W.; Martin, G. B. Chromosome landing: a paradigm for map based gene cloning in plants with large genomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, vol. 112, p. 63-68.
84. Gall, J.; Pardue, M. Formation and detection of RNA-DNA molecules in cytological preparations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1969, vol. 63, p. 378-383.
85. John, H.; Binstiel, M.; Jones, K. RNA-DNA hybrids at the cytological level. *Nature*, 1969, vol. 223, p. 582-587.

Recibido: 30 de agosto del 2001

Aceptado: 2 de octubre del 2001