



Apéndice 3

Los últimos adelantos en metodologías y tecnologías para la identificación, conservación y utilización de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura

A3.1 Introducción

La magnitud y estructura de la diversidad genética de una población determina su capacidad para adaptarse al ambiente mediante la selección natural. Esto se debe a que cuando la diversidad genética es escasa se reducen las combinaciones posibles de genes capaces de conferir adaptación biológica y, por consiguiente, capacidad de adaptación ante las variaciones de las condiciones ambientales, lo cual reduce la probabilidad de que surjan nuevos individuos valiosos en la población. De este modo, una población que crece en la naturaleza (o que se maneja en un área protegida) debe contar con una diversidad genética adecuada para asegurar su existencia frente a los constantes cambios en los componentes bióticos y abióticos de su ecosistema.

Un escenario paralelo donde se observan poblaciones naturales es el de los programas de fitomejoramiento con respecto a la variación heredable disponible dentro del germoplasma. Los fitomejoradores buscan y recombinan la variabilidad genética en las poblaciones de sus cruzamientos y realizan un seguimiento de las características o rasgos deseados que permiten que los cultivos subsistan en determinados ambientes, o bien resistan ante ciertas plagas o patógenos. Por lo tanto, los fitomejoradores necesitan acceso a una diversidad genética adecuada para lograr resultados satisfactorios en los programas de mejoramiento.

Remarcando estos escenarios (variaciones en la naturaleza y en las colecciones de germoplasma destinadas al fitomejoramiento), conceptualizados de manera superficial como “la diversidad es buena” en la naturaleza y en los programas de fitomejoramiento, subyacen varios asuntos de gran complejidad. Es imprescindible y fundamental distinguir entre la diversidad fenotípica (el resultado neto de la interacción entre componentes heredables y no heredables de variación) y la diversidad genética (hereditaria). Otros problemas están relacionados con la necesidad de elaborar estrategias para buscar, mantener, medir y controlar la diversidad genética, y de idear mecanismos para explotar esta diversidad con mayor eficiencia. Los procesos inherentes a ambos escenarios pueden complicarse aún más a causa de la biología de las especies, que abarca el sistema de mejoramiento genético, ya sea anual o perenne, los niveles de ploidía y su tolerancia ecológica. Es por ello que el grado de comprensión de estos factores repercute en la capacidad de los investi-

gadores para desarrollar estrategias de mejoramiento o conservación de las especies en cuestión.

También existen problemas no biológicos que pueden complicar las prácticas de ordenación de poblaciones naturales o de materiales de mejora; éstas incluyen problemas organizativos, de políticas, legales y económicos. Además, se pueden observar problemas de escala a nivel nacional, regional y mundial, con respecto a la colaboración, los incentivos y la eficacia que facilitan la conservación y utilización de recursos genéticos.

El objetivo de este Apéndice es resumir primordialmente el estado del conocimiento científico, las prácticas y las tecnologías en materia de diversidad genética que han surgido desde la publicación del Primer Informe sobre el *Estado mundial de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura* en 1998, donde también se incluyó un resumen similar en el Anexo 1. También se tratará el estado del entorno propicio para el aspecto social, ya que sus componentes repercuten en forma directa en la capacidad nacional para la conservación y utilización de los recursos genéticos.

El Anexo 1 del Primer Informe expone claramente la importancia de la diversidad genética en el contexto de la conservación y utilización de germoplasma vegetal; los contrastes existentes entre la variación genética cualitativa y cuantitativa y la distinta importancia que los encargados y usuarios de los recursos genéticos atribuyen a estos factores; los medios y las técnicas de conservación; las diversas estrategias de mejoramiento y sus funciones y desafíos con respecto a los objetivos de mejoramiento; y, por último, las cuestiones legales y económicas que pueden promover o desalentar la conservación y utilización de los recursos genéticos. Este Apéndice no repite esa información, sino que se centra en los nuevos avances logrados desde la publicación del Primer Informe.

A3.2 Avances en el conocimiento de la genética relevantes para la conservación y utilización de los RFAA

Los principales avances en la comprensión y aplicación del concepto de herencia en la ordenación de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura (RFAA) en los últimos 12 años emanan de los grandes adelantos que se han logrado en la biología molecular,

APÉNDICE 3

particularmente en materia de genómica, el estudio de toda la constitución genética de un individuo (genoma). Gracias a la capacidad de secuenciar genomas completos de manera oportuna y eficiente, el período se ha caracterizado por un volumen en constante crecimiento de información secuencial de ADN, genes y proteínas a disposición del público. Esto, además, se ha visto perfeccionado por los increíbles avances conseguidos en materia de generación y análisis de datos para alcanzar un nivel de información que era inalcanzable hace un par de décadas. Este paradigma contrasta notablemente con el grado de comprensión mucho menor del concepto de herencia, que había sido posible hasta ahora mediante el uso de la genética clásica de manera aislada.

La genómica y los campos relacionados de la proteómica (el estudio de las proteínas), la metabolómica (el estudio de los metabolitos) y la más reciente fenómica (el estudio de los fenotipos en relación con la genómica) han surgido de una confluencia entre la genética clásica, las herramientas de laboratorio automatizadas para la generación de datos moleculares y los métodos de gestión de la información, en especial la bioinformática. Los avances en el ámbito de la taxonomía y la sistemática, que se pueden atribuir en gran medida a la información perfeccionada proveniente de la utilización de los enfoques de biología molecular en las caracterizaciones de genomas, han posibilitado una mejor comprensión de la estructura de las reservas genéticas y de las relaciones dentro y entre las agrupaciones taxonómicas. Además, en algunos casos, esta mejor comprensión ha ocasionado la revocación de las clasificaciones taxonómicas asignadas hasta el momento. Estas nuevas ramas de las ciencias biológicas repercuten de manera directa en la gestión del germoplasma (es decir, en la designación de las colecciones de referencia) y en la determinación de las necesidades de otras colecciones de recursos genéticos. Asimismo, los datos moleculares, al no verse afectados por el entorno, son especialmente útiles para idear estrategias de mejoramiento de los cultivos que incluyen actividades de preselección, ya que son particularmente adecuadas para realizar una búsqueda exhaustiva en las reservas genéticas con el propósito de encontrar nuevas fuentes de alelomorfos.

Las contribuciones que la genómica y otras ciencias similares han aportado a la biología básica han sido igualmente profundas, dado que la aplicación juiciosa de dichas ciencias continúa posibilitando una mejor comprensión de los procesos metabólicos y de sus vías y componentes clave.

Esto permite que los investigadores, en última instancia, logren una mayor precisión en la identificación de genes y de sus alelomorfos para utilizar esta información en el mejoramiento de los cultivos. Otro hecho importante es que las técnicas de biología molecular están permitiendo obtener conocimientos más acabados y precisos sobre la adaptación y la evolución. Esto permite diferenciar claramente la diversidad genética neutral de la diversidad genética adaptativa, y la función que los diferentes marcadores pueden desempeñar en la identificación y utilización de la diversidad genética.

En la actualidad, la capacidad generalizada de utilizar enfoques moleculares apropiados para identificar segmentos de genomas que realicen diferenciaciones entre individuos (conocidos como marcadores moleculares) y de aplicar algoritmos estadísticos para identificar con precisión la ubicación de los genomas de dichos "puntos de referencia", hace que los marcadores moleculares sean, hoy día, las herramientas de preferencia para rastrear la herencia de determinadas regiones de genomas en los programas de fitomejoramiento (selección asistida por marcadores) y para caracterizar las colecciones de germoplasma. El uso rutinario de las herramientas moleculares en el análisis de las colecciones de germoplasma para la ordenación de los RFAA permitirá conseguir una mejor eficiencia en la gestión de las colecciones. Entre las ventajas se incluye un proceso más sencillo de identificación y eliminación de duplicados (u otros niveles de redundancia) en las colecciones de germoplasma, y de creación de colecciones de referencia.

Otra esfera de la ordenación de los RFAA que se ha visto profundamente afectada por la aplicación de las técnicas de biología molecular es la genética de poblaciones. Esto obedece al uso generalizado de datos moleculares en el estudio de las poblaciones (diversidad y estructura). La fuerte dependencia de los datos moleculares en la genética de poblaciones ha dado origen al neologismo "genómica de poblaciones". Cada vez es más habitual, por ejemplo, identificar un *locus* específico bajo selección natural y, por ende, de importancia adaptativa, simplemente tomando una muestra a nivel de la población. También se ha convertido en un procedimiento rutinario realizar un seguimiento de la expresión genética (basada en el perfilado genético de las transcripciones, o transcriptómica), incluso a nivel de los tejidos, bajo diferentes influencias ambientales (bióticas y abióticas) y conforme a un régimen cronológico. Una estrategia de estas características, además de permitir la identificación

de los genes que modulan cada expresión fenotípica, también posibilita la explicación de las funciones de los genes y sus interacciones con otros genes. De esta manera, el nivel de conocimiento logrado sobre los genes y sus funciones, y los avances en las herramientas utilizadas resultarán de un valor incalculable a medida que se realicen inversiones en programas de mejoramiento de los cultivos, destinados a desarrollar variedades que prosperen a pesar de las condiciones climáticas extremas previstas como consecuencia de las variaciones y el cambio climático mundial. Un ejemplo específico del impactante contraste entre lo que se consideraba posible en 1995 y lo que es posible ahora se observa en el Anexo 1 del Primer Informe, donde se afirmaba que la aplicación directa de la secuenciación del ADN era más útil para la identificación de un gen o grupo de genes que para analizar un genotipo completo. La conclusión en ese momento fue que había solo “una posibilidad muy limitada de tomar muestras de numerosas variantes para la caracterización de los RFAA”. En la actualidad, gracias a las mejoras tecnológicas, en especial aquellas relacionadas con las plataformas de alta capacidad de procesamiento para la extracción de ADN, la amplificación y visualización de fragmentos de ADN (y ARN), la determinación de secuencias de fragmentos de ADN (y de genomas completos), la capacidad de procesamiento informático considerablemente mejorada (análisis y almacenamiento de datos) y el conjunto de programas analíticos personalizados, la caracterización de grandes cantidades de muestras de polimorfismos (diferencias en secuencias) en miles de *loci* de ADN en todo el genoma se ha convertido en una tarea de rutina.¹

Otra esfera que ha registrado un progreso importante desde 1995 es la identificación del orden lineal conservado de los genes en los cromosomas, un fenómeno conocido como sintenia. Esto se ha establecido no solo entre especies estrechamente relacionadas sino con taxones más distantes e, incluso, entre especies cuyos tamaños de genoma difieren considerablemente. La sintenia se ha documentado para varios taxones en familias tales como las *Fabaceae*, *Poaceae*, *Solanaceae* y *Brassicaceae*. Estos hallazgos han impulsado la inversión de una importante cantidad de esfuerzos en el ámbito de la genómica comparativa, con el objetivo de aprovechar la información sobre secuencias genéticas de las especies modelo para identificar genes en taxones que no pertenezcan a estas especies. La medición de la microsintenia (similitud entre taxones en el ordenamiento de las secuencias nucleicas

a lo largo del mismo cromosoma) recién se pudo llevar a cabo con la disponibilidad de abundantes cantidades de datos sobre secuencias genómicas, actualmente de dominio público. Los casos demostrados de macrosintenia (similitud entre taxones en el ordenamiento de grandes cantidades de genes a lo largo del mismo cromosoma) sugieren, de este modo, que existen segmentos genómicos ancestrales conservados en varios taxones. Esto implica que los marcadores moleculares identificados en dichos segmentos podrían utilizarse en caracterizaciones genómicas, incluso entre diferentes taxones. Por supuesto, la utilidad de la sintenia siempre quedará sujeta a las influencias de las reorganizaciones cromosómicas.²

Los avances clave desde la publicación del Primer Informe, en general, han sido la mayor comprensión de la diversidad genética entre especies, poblaciones y reservas genéticas con respecto a la distribución y estructura, y una mayor capacidad para estudiar esta diversidad. Ahora se ha determinado que el polimorfismo de las secuencias nucleicas proporciona una información valiosa para comprender e implementar la diversidad genética en el mejoramiento de los cultivos. La utilidad de estos polimorfismos, como marcadores moleculares, es incluso mayor cuando el polimorfismo se produce dentro de un gen determinado (que proporciona marcadores funcionales). A continuación, se detallan algunos ejemplos representativos.

A3.3 Avances en materia de biotecnología relevantes para la conservación y utilización de los RFAA

Las aplicaciones iniciales de la biología molecular en la caracterización de genomas vegetales incluían una única secuenciación génica, el desarrollo y la utilización de marcadores de polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción (PLFR) y de tipos de transferencia puntual de baja densidad de los alineamientos de ADN (transferencias Northern). Inicialmente, el estado del conocimiento también favoreció el paradigma de “un gen, un fenotipo”. Todo ello estaba vigente cuando se publicó el Primer Informe, pero rápidamente se suplantó por la determinación de secuencias de genomas completos, el uso generalizado de marcadores genéticos moleculares en la reacción en cadena de la polimerasa (RCP), los mar-

APÉNDICE 3

cadore de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) y los alineamientos de densidad media (para el descubrimiento de genes y la explicación de las funciones). Actualmente, la determinación de secuencias de genomas completos por comparación (mediante la utilización de múltiples especies relacionadas), la identificación de genotipos por ultra alta densidad (que incluye la resecuenciación de individuos) y los alineamientos de genomas completos para supervisar la transcripción de todo el genoma y la unión alternativa (o diferencial) son solo algunos ejemplos de las nuevas herramientas de biología molecular que están revolucionando la totalidad del análisis del genoma del germoplasma de cultivos. Además, el paradigma de “un gen, un fenotipo” está dando lugar a una nueva filosofía que contempla un genoma dinámico que responde de manera global a las vías de desarrollo y a las señales medioambientales.³

Velocidad, escala y tamaño son los parámetros en los que los avances tecnológicos tienen el mayor impacto positivo. La velocidad o capacidad de procesamiento ha aumentado considerablemente en diversas actividades, que van desde la extracción de ADN y las reacciones en cadena de la polimerasa hasta el perfilado de transcritomas de microalineamientos. La escala del enfoque también se ha ampliado significativamente, tal como se ejemplifica con la cantidad de marcadores moleculares que puede utilizarse para analizar muestras de ADN individuales de manera simultánea; la cantidad de progenie originada en sucesos de mutación o recombinación que puede analizarse para detectar respuestas de baja probabilidad; o bien la cantidad de muestras que puede manejarse simultáneamente con la robótica. En general, los tamaños y alcances manejables de varias actividades y ensayos han aumentado considerablemente; la cantidad de pares de bases de ácido nucleico que se pueden amplificar o secuenciar, el alcance de la cobertura del genoma en cualquier ensayo, la densidad de marcadores moleculares (cantidad de marcadores por centimorgan) en un mapa de ligamiento genético molecular, la longitud de los fragmentos insertados en bibliotecas de cromosomas artificiales bacterianos (BAC) y la longitud de los cóntigos que se pueden ensamblar al comparar datos de secuencias son solo algunos ejemplos de estos incrementos.

Curiosamente, los aumentos que se observan en el alcance y la escala han avanzado junto con las mejoras

concomitantes en los niveles de eficiencia, dado que los costos y el tiempo por punto de datos de una unidad han disminuido significativamente; los equipos y insumos son más accesibles, lo cual les ha permitido ingresar en instalaciones de investigación con distintas capacidades de presupuesto, infraestructura y recursos humanos. Sin embargo, cabe destacar que el resultado neto de los aumentos de velocidad, escala y tamaño, y la reducción de costo y tiempo es, en sí mismo, una nueva clase de limitación, ya que implica la necesidad de almacenar, procesar, analizar, interpretar y visualizar enormes volúmenes de datos. Los avances en el sector de equipos y programas informáticos se están encargando de resolver esta limitación en forma muy satisfactoria. Esto se ve reflejado en la gran variedad de alternativas que a menudo ofrece la parafernalia de la tecnología de la información para que los investigadores puedan administrar datos moleculares.

La determinación de las secuencias del genoma también ha continuado desarrollándose rápidamente junto con los avances en la ciencia de la biología molecular antes mencionados y las innovaciones logradas en las plataformas tecnológicas auxiliares. El primer genoma vegetal

Recuadro A3.1

Lista de especies de plantas con proyectos de secuenciación de genomas en curso durante 2010¹⁵

Amaranthus tuberculatus, *Aquilegia coerulea*, *A. formosa*, *Arabidopsis arenosa*, *Arundo donax*, *Beta vulgaris*, *Brassica napus*, *B. oleracea*, *B. rapa*, *Capsella rubella*, *Chlorophytum borivillianum*, *Citrus sinensis*, *C. trifoliata*, *Cucumis sativus*, *Dioscorea alata*, *Eucalyptus grandis*, *Gossypium hirsutum*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Hordeum vulgare*, *Jatropha curcas*, *J. tanjorensis*, *Lotus japonicus*, *Madhuca indica*, *Malus x domestica*, *Manihot esculenta*, *Milletia pinnata*, *Mimulus guttatus*, *Miscanthus sinensis*, *Musa acuminata*, *Nicotiana benthamiana*, *N. tabacum*, *Oryza barthii*, *Panicum virgatum*, *Phoenix dactylifera*, *Pinus taeda*, *Ricinus communis*, *Solanum demissum*, *S. lycopersicum*, *S. phureja*, *S. pimpinellifolium*, *S. tuberosum*, *Theobroma cacao*, *Triphysaria versicolor*, *Triticum aestivum*, *Vigna radiata* y *Zostera marina*.

completamente secuenciado fue el de *Arabidopsis thaliana* en el año 2000.⁴ Esta especie posee un genoma pequeño y se ha convertido en una especie vegetal modelo para la investigación en el campo de la biología y la genética. La segunda especie vegetal secuenciada fue una especie cultivada: el arroz. En 2002 se publicaron las secuencias de dos genotipos diferentes de arroz (*Oryza sativa indica*⁵ y *O. sativa japonica*).⁶ Además, la primera secuenciación de un genoma de árbol se realizó con una especie de álamo (*Populus trichocarpa*) en 2006.⁷ También en 2006, se publicó la secuencia preliminar del genoma de *Medicago truncatula*.⁸ Esta especie proporciona un modelo de genoma para las leguminosas. Los otros genomas de cultivos que se han secuenciado son los del sorgo (*Sorghum bicolor*), la uva (*Vitis vinifera*) y la papaya (*Carica papaya*); estas tres secuencias se publicaron en 2007.⁹ En 2008, se publicaron las secuencias preliminares de la soja (*Glycine max*)¹⁰ y de *Arabidopsis lyrata*¹¹, pariente cercana de la *A. thaliana*, pero con un genoma más grande. Más recientemente (2009), se publicaron las secuencias de *Brachypodium distachyon*¹² (una nueva especie modelo para pastos templados y cultivos energéticos herbáceos) y para el maíz (*Zea mays*).¹³ En el Recuadro A3.1 se identifican varias especies de plantas superiores con proyectos de secuenciación de genomas en curso (a principios de 2010).¹⁴ Además de la determinación de secuencias de genomas completos, hay disponibles enormes volúmenes de datos secuenciales para diversas especies de plantas; estos datos se obtienen a partir de la secuenciación de fragmentos considerables de sus genomas (por ejemplo, la secuenciación de bibliotecas de BAC o de cromosomas completos). Entre los ejemplos de especies de cultivos (o especies estrechamente relacionadas con los cultivos) con importantes depósitos de secuencias de ADN disponibles en bases de datos de acceso público se pueden mencionar: *Brassica rapa*, *Carica papaya*, *Gossypium hirsutum*, *Glycine max*, *Hordeum vulgare*, *Lotus japonicus*, *Medicago truncatula*, *Sorghum bicolor*, *Solanum lycopersicum*, *Triticum aestivum*, *Vitis vinifera* y *Zea mays*.¹⁶ Otra fuente de información secuencial son las colecciones de etiquetas de secuencia expresada (ESE, producidas por la secuenciación de bibliotecas de ADN complementario o ADNc) que se están generando para varios cultivos. El maíz, el trigo, el arroz, la cebada, la soja y *Arabidopsis* cuentan con las colecciones más grandes de secuencias ESE para plantas; se han publicado más de un millón de ESE para cada una de estas especies de plantas.¹⁷

El desarrollo de nuevas tecnologías de secuenciación del ADN¹⁸ se ha visto favorecido por las actividades de investigación y desarrollo financiadas con fondos públicos y privados en el ámbito de la genómica humana. Un tanto rezagada, pero no obstante aprovechando enormemente el progreso logrado en el campo de la genómica humana, se encuentra la aplicación de estas tecnologías a la investigación de plantas en general y, más específicamente, a la investigación pertinente para el mejoramiento de los cultivos, la evolución de las plantas y la conservación de los recursos fitogenéticos. Se están logrando avances continuos tanto en el equipo como en el programa utilizado para la secuenciación de genomas¹⁹ y se prevé que, en el futuro cercano, la determinación de secuencias de genomas completos será tan accesible que se convertirá en la estrategia de caracterización de genomas más utilizada. Para respaldar este pronóstico, las llamadas plataformas de secuenciación de última generación (es decir, los nuevos métodos que no se basan en el sistema de Sanger de 1997, a saber, secuenciador 454 de Roche y secuenciador SOLEXA de Illumina, sino que se basan en gran medida en la pirosecuenciación, una tecnología más eficiente y veloz) cada vez tienen más aceptación y, por lo tanto, mayor participación en el mercado de la secuenciación.

A3.4 Evaluación y análisis de la diversidad genética

Actualmente existen varias estrategias para evaluar la diversidad genética y la estructura de las poblaciones de plantas. Muchas de ellas estaban vigentes en el momento de la publicación del Primer Informe y siguen siendo valiosas; estas incluyen el análisis genealógico y los experimentos de campo replicados (para cuantificar las variaciones heredables y sus componentes). Las herramientas moleculares utilizadas para la caracterización del germoplasma y los estudios de la diversidad en 1995 incluían marcadores de izosimas, polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), ADN polimórfico amplificado al azar (APAA), repetición de secuencia única (SSR) y polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (PLFA). Debido a la amplia difusión de los métodos de secuenciación de genomas y generación de ESE, ahora es mucho más sencillo generar marcadores SSR y, por lo tanto, se ha generalizado ampliamente su uso. Los avances conseguidos en los sis-

APÉNDICE 3

temas de detección de marcadores con alta capacidad de procesamiento, en especial las plataformas que son aptas para la automatización y los diversos grados de multiplexación, también han posibilitado una mayor facilidad y eficiencia en la utilización de marcadores basados en la RCP, incluidos los PLFA. Algo muy importante para destacar es que la capacidad de detectar SNP, un tipo de marcador que rápidamente se está convirtiendo en la opción preferida de los sistemas de alta capacidad de procesamiento, con facilidad en todas las partes de los genomas, es un resultado directo de la capacidad de secuenciación considerablemente mejorada. Las SSR y los más recientes SNP son aptos para la caracterización genotípica.²⁰ Los SNP ofrecen la promesa de un mapa con mayor resolución, más capacidad de procesamiento, costos menores y una tasa de error inferior en comparación con los marcadores SSR.²¹

Una característica adicional de estos marcadores (SNP y SSR) es la posibilidad de transferirlos de los genotipos en los que están identificados a materiales relacionados para los que no hay disponible información secuencial, sin necesidad de repetir la secuenciación.²² La discriminación de individuos mediante los SNP dispersos en un genoma o en una sección de interés en particular se ha convertido en una manera muy eficaz de caracterizar colecciones, como los materiales de mejoramiento (incluidas las poblaciones segregantes) y las muestras de bancos de genes.²³

La utilidad de la caracterización de genomas basada en SNP para el mejoramiento de cultivos y los bancos de genes (materiales *in situ* y *ex situ*) puede verse comprometida cuando no hay disponible información secuencial. En esos casos, los SNP no son una opción; un procedimiento de análisis de microalineamientos de alta capacidad de procesamiento, con la tecnología *Diversity Array Technology* (DArT), podría ser una alternativa más apropiada. La tecnología DArT realiza una discriminación entre individuos basándose en los polimorfismos resultantes de las comparaciones simultáneas con una representación genómica común definida. Se trata de un sistema de alta capacidad de procesamiento y bajo costo que requiere una muestra de ADN mínima por individuo y, al mismo tiempo, proporciona una cobertura integral del genoma, incluso en organismos que no disponen de información secuencial de ADN.²⁴ Desde la prueba de concepto realizada con el arroz en 2001, la DArT se ha empleado para análisis de alta capacidad de procesamiento en varios géneros, que incluyen cebada, *Musa* y eucalipto. Por ejemplo, los marcadores DArT resultaron igualmente

útiles para revelar las relaciones genéticas entre 48 muestras de *Musa* (derivadas de dos especies silvestres con diferentes composiciones genómicas) que otros marcadores, pero con un costo menor y mayor resolución y velocidad.²⁵

Las características cualitativas (como las numerosas resistencias a enfermedades y tolerancias a las tensiones) y cuantitativas (como los índices de rendimiento y productividad) son, por lo general, los objetivos de mejora de los programas de fitogenética y de caracterización de las colecciones de los bancos de genes. Obtener esta información para las colecciones de individuos es una tarea laboriosa y costosa, e incluye el rastreo en presencia de patógenos y tensiones en experimentos de campo replicados con tamaños de muestras adecuados. La utilidad de los marcadores moleculares, que podrían actuar como valores aproximados para este tipo de estudios laboriosos y costosos, es evidente.

Tanto las selecciones naturales como las artificiales están dirigidas a los genes. Si bien la selección es una fuerza específica del *locus*, crea un patrón de variación que incluye algunos *loci* en regiones específicas del genoma. La variación en las características regidas por los genes debería ser, por consiguiente, una medida de la diversidad genética adaptativa o del potencial adaptativo de una población o reserva genética de fitomejoramiento. La mayoría de los marcadores moleculares solo miden la variación genética neutra, es decir, las variaciones observadas en las secciones del genoma que no están relacionadas con la codificación ni con la regulación de los genes y que, por lo tanto, se supone que no se encuentran bajo presión de selección natural. Estos patrones de variación genética se encuentran en todo el genoma. Debido al hecho de que los métodos moleculares son veloces y relativamente económicos, los estudios sobre variaciones de marcadores moleculares cada vez se utilizan con más frecuencia y resultan atractivos como medios para evaluar la diversidad genética en poblaciones o reservas genéticas. Además, la utilización de estos marcadores de base genética para el análisis ofrece ventajas incluso más beneficiosas. Uno de los avances importantes logrados en la última década es que las relaciones entre la diversidad genética adaptativa y la diversidad genética neutra se están tornando mucho más claras.²⁶

Lamentablemente, muchos de los marcadores moleculares neutros no suelen indicar el potencial adaptativo de las poblaciones o muestras que caracterizan (por ejemplo, PLFR, APAA, PLFA y SSR).²⁷ En algunos casos, se han utilizado de manera inapropiada para este propósito con la supo-

sición de que existe una correlación positiva entre los marcadores neutros y la variación adaptativa cuantitativa. Existen marcadores moleculares neutros cuyo uso es apropiado y valioso para la conservación y utilización de recursos genéticos. Cuando es posible medir los patrones de la variación genética en varios marcadores moleculares neutros esparcidos aleatoriamente por todo un genoma, pueden resultar muy útiles para la medición de los procesos que tienen lugar dentro de los ecosistemas, como el flujo de genes, la deriva y migración o dispersión genéticas, que actúan en todo el genoma; estas mediciones son importantes para la biología de la población, para controlar el progreso en la conservación de especies en áreas protegidas o para poner a prueba el éxito de las conexiones espaciales entre reservas.²⁸

Dada la cantidad de enunciados nuevos y razonados sobre las distinciones entre los tipos de marcadores moleculares y la conveniencia de sus respectivas aplicaciones para la conservación y utilización de recursos genéticos, se espera que cualquier informe que aborde la implementación de marcadores moleculares proporcione un fundamento para el tipo de marcador utilizado con respecto al objetivo del trabajo.²⁹ Un ejemplo donde se investigó la utilidad de determinados tipos de marcadores para usos específicos es el análisis que se llevó a cabo en la cebada sobre tres tipos de marcadores (SSR derivados de ESE, PFLA y SNP derivados de ESE) para su utilización en análisis de diversidad en materiales de mejoramiento, poblaciones naturales y bancos de genes. Ningún tipo de marcador resultó ser el más apto para todos los usos analizados.³⁰

Dada la capacidad de trabajar con secuencias genómicas en bruto, ahora es posible apreciar el patrón integral de polimorfismos del ADN dentro de una especie. *Arabidopsis thaliana* es la planta que más se ha estudiado a este nivel desde que se determinó la secuencia de su genoma. Existe una inmensa variación natural tanto en los marcadores de ADN neutros como en aquellos *loci* que ocasionan los cambios fenotípicos.³¹ Las especies de cultivos propiamente dichas podrán aprovechar este modelo cada vez más a medida que las secuencias genómicas sean más accesibles. Los SNP derivados de las ESE se utilizaron satisfactoriamente para la identificación de cultivares en el melón; esto brinda un ejemplo de implementación de polimorfismo a nivel del ADN para la caracterización del genoma, un área donde existen pocas herramientas genómicas más allá de las ESE y los mapas genéticos basados en marcadores moleculares tempranos.³²

Mientras los investigadores aprovechan estas innovaciones, es necesario recalcar que las estrategias adoptadas para realizar estimaciones acerca de la diversidad genética deben adecuarse a los objetivos para la conservación y utilización de los recursos genéticos. Para ilustrar este punto, si el propósito de analizar la diversidad de una serie de poblaciones pertenecientes a una especie (medida por un marcador molecular neutro) es acordar una mayor prioridad para la conservación de las poblaciones más diversas con la suposición de que, además, se conservará la mayor diversidad genética adaptativa, el investigador puede decidir que es necesario contar con una cantidad relativamente pequeña de poblaciones para capturar la mayor cantidad de diversidad genética neutra. Una posible dificultad en este escenario es que si, por ejemplo, se abandonaran las poblaciones restantes haciendo caso omiso de las pocas poblaciones diversas, se perderían grandes cantidades de diversidad genética adaptativa, la cual no se encuentra distribuida de manera uniforme entre todas las poblaciones. Esto iría en contra del objetivo originalmente establecido para la evaluación de la diversidad genética.³³

Los marcadores moleculares también se están utilizando cada vez más en aplicaciones de secuencia subsiguientes. Por ejemplo, además de servir como herramienta para la conservación y utilización de los recursos genéticos, los marcadores se han utilizado satisfactoriamente para investigar el impacto genético de las prácticas tradicionales empleadas por los agricultores, que a menudo no están bien documentadas. Un estudio de caso donde se analizan los ñames en Benin demostró que las prácticas tradicionales utilizadas por los agricultores para la selección espontánea de ñames silvestres en áreas cercanas a las explotaciones y su posterior cultivo dieron como resultado la creación de nuevas variedades con combinaciones genéticas nuevas. Estas nuevas variantes surgieron como resultado directo de la reproducción sexual entre ñames silvestres y cultivados, dado que fue posible rastrear los alelos hasta llegar a los progenitores. Los marcadores utilizados en este estudio fueron las SSR. Por lo tanto, se dedujo que la combinación de un ciclo de reproducción sexual seguido de la multiplicación vegetativa tradicional (mediante la utilización de tubérculos) da lugar al cultivo a gran escala de los mejores genotipos y, a la vez, facilita la introgresión de diversidad potencial que podría resultar útil para la adaptación futura.³⁴

APÉNDICE 3

A3.5 Tecnologías y estrategias de conservación

Un aspecto de la utilización y conservación de los RFAA que ha permanecido en gran medida sin registrar avances significativos desde la publicación del Primer Informe son las condiciones ortodoxas del almacenamiento de semillas. Las recomendaciones actuales en cuanto a temperatura y humedad aún son las mismas que se elaboraron antes del Primer Informe. Sin embargo, desde entonces, los informes de los países que forman parte de este Segundo Informe sobre el estado mundial de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura y la estrategia de conservación por cultivos desarrollada por el Fondo Mundial para la Diversidad de Cultivos (GCDT) señalan sus inquietudes en cuanto al atraso que se observa en los ensayos y la regeneración de muestras. Por ejemplo, se ha informado que los resultados de las pruebas de viabilidad revelan la necesidad de regeneración después de períodos de almacenamiento más breves que lo que estaba establecido. Es posible que, como ha demostrado un investigador, la humedad sea el más crítico de los dos factores de almacenamiento y que las semillas estén expuestas a niveles de humedad superiores a los óptimos en los materiales utilizados para su empaque, con la consecuente pérdida de viabilidad.³⁵ Dada la oportunidad de lograr posibles mejoras en la eficiencia del almacenamiento de semillas, probablemente sea el momento de aplicar las innovadoras herramientas de la biología para descifrar las interacciones aparentemente complejas que ocurren en los distintos tipos de contenedores para almacenar semillas, y en las matrices de los regímenes de temperatura y humedad.³⁶

En los últimos doce años, ha aumentado progresivamente la cantidad de informes que contienen evaluaciones de la utilidad de los marcadores moleculares como herramientas confiables para la gestión de la diversidad conservada en bancos de genes. Un ejemplo de este tipo de estudio fue la utilización de marcadores PLFA para evaluar la magnitud de la diversidad genética dentro de una muestra para una especie autofértil, la lechuga, en la institución *Centre for Genetic Resources (CGN)*, en los Países Bajos. Se analizaron dos plantas, cada una con un total de 1 390 muestras, (que comprendían seis tipos de cultivares) con el alineamiento de marcadores disponibles. En líneas generales, había una probabilidad media muy baja (cerca

del uno por ciento) de que difieran dos plantas de una muestra. Sin embargo, esta probabilidad era distinta entre los tipos de cultivares. Los tipos compuestos por muestras que eran principalmente cultivares modernos presentaban una probabilidad de diferenciación entre las dos plantas de alrededor del 0,5 por ciento, mientras que los dos tipos compuestos por muestras que eran principalmente razas nativas tenían una probabilidad que superaba el uno por ciento. Esta información podría ser útil para determinar si el nivel observado de diversidad en cada muestra debería mantenerse en las generaciones futuras de la muestra, y para definir el procedimiento correspondiente.³⁷

La utilidad de los marcadores moleculares como medios que contribuyen a la toma de decisiones en las estrategias de gestión de la diversidad conservada también se ha demostrado ampliamente con las colecciones de campo. Las técnicas de caracterización genética se han utilizado para determinar la identidad y redundancia en grandes colecciones de campo. Por ejemplo, en el Banco Internacional de Genes de Cacao, Trinidad (ICGT), en Trinidad y Tobago, se conservan más de 2 000 muestras de cultivos en una colección de campo, y cada muestra está representada por alrededor de 16 árboles individuales, con un promedio general de seis árboles por muestra. La caracterización genética mediante *SSR multilocus* se utilizó satisfactoriamente para resolver las ambigüedades ocasionadas por el marcado incorrecto de las plantas, un problema crítico en este tipo de operaciones extensivas.³⁸

Una nueva tendencia que se ha observado durante los últimos 12 años ha sido la conservación de bancos de ADN de RFAA. Se ha informado sobre la existencia de bibliotecas de ADN de muestras de germoplasma, poblaciones cartográficas, materiales de mejoramiento y otros que se pueden consultar a voluntad para realizar ensayos moleculares con ese material. Esta práctica seguramente será más generalizada a medida que los ensayos moleculares y las instalaciones requeridas resulten menos costosos. Esto, a su vez, permitirá que esta opción tecnológica sea más accesible para los profesionales en este campo. Un dato que demuestra esta tendencia es que se han establecido más depósitos formales de ADN vegetal bajo los auspicios de jardines botánicos (por ejemplo, *RGB Kew DNA Bank* o el banco de ADN de *Berlin Botanic Garden and Botanical Museum*) o de entidades independientes (por ejemplo, *Australian Plant DNA Bank* y *National Institute of Agrobiological Sciences [NIAS] DNA Bank*, Japón).

Además de las plataformas de manejo de datos habituales utilizadas para las muestras de germoplasma clásicas, se requiere una instalación de bioinformática asociada para que un banco de ADN pueda incorporar el manejo de datos moleculares, como la información sobre marcadores y secuencias de cada muestra. Los bancos de ADN también podrían funcionar como fuentes de información genética proveniente de taxones a riesgo, sin necesidad de una prospección de germoplasma adicional.³⁹

A3.6 Metodologías de fitomejoramiento

Es necesario destacar que la utilización de herramientas genómicas en las diferentes facetas de la ordenación de RFAA no ha reducido la importancia de la caracterización fenotípica de los materiales de mejoramiento, de las poblaciones cartográficas y naturales ni de las muestras de bancos de genes. Por el contrario, la determinación exhaustiva y precisa de fenotipos mantiene la importancia que ha tenido siempre y es fundamental para la utilidad de los datos moleculares, dado que estos tienen valor solo si están vinculados con exactitud a los fenotipos.

Las primeras iniciativas orientadas al desarrollo de grandes cantidades de marcadores moleculares, mapas genéticos de alta densidad y poblaciones cartográficas correctamente estructuradas han comenzado a mejorar la eficiencia del mejoramiento genético de varias especies de cultivo. Los resultados de cuantiosos estudios cartográficos brindan estimaciones mucho más precisas en cuanto a la cantidad de *loci*, los efectos alélicos y la acción genética que controlan las características de interés.⁴⁰ Se han producido varios avances de importancia en la incorporación de técnicas moleculares a las estrategias de mejoramiento desde la publicación del Primer Informe. Estos avances han dado lugar al paradigma del mejoramiento molecular, un término colectivo que comprende la selección asistida por marcadores y las tecnologías de ADN recombinante como estrategias para el mejoramiento de los cultivos.

SAM

Este término se refiere a la nueva estrategia de mejoramiento de los cultivos, en la que se utilizan marcadores moleculares (puntos de referencia genómicos) para con-

tribuir al proceso de toma de decisiones en el análisis de los materiales de mejora. Este cambio de paradigma se ha visto favorecido a gran medida por los métodos de alta capacidad de rendimiento para la identificación y utilización de marcadores moleculares a gran escala, incluida la infraestructura de tecnología de la información, y por los enfoques interdisciplinarios que hacen posible la determinación de fenotipos y las caracterizaciones de rasgos en distintos entornos. Las verificaciones firmes de la cosegregación de la característica de interés con uno de los tantos posibles tipos de marcadores de ADN preceden el uso de dicho marcador para seleccionar la característica en los materiales de mejora. La selección asistida por marcadores moleculares (SAM) se está convirtiendo en una herramienta valiosa para los diferentes cultivos, y se estima que su utilidad aumentará considerablemente a medida que los ensayos de biología molecular sean más rentables.⁴¹ El desarrollo de los marcadores se ha visto muy favorecido por las mejoras logradas en materia de localizaciones genómicas de los alelos genéticos que controlan las características. Los avances conseguidos en el ámbito de la confección de mapas de ligamiento genético molecular, en la elaboración de mapas físicos y, más recientemente, en la cartografía de asociación, contribuyen a incrementar constantemente el repertorio de marcadores moleculares útiles para el mejoramiento de los cultivos.

La cartografía de asociación, también conocida como análisis de asociación o cartografía de desequilibrio de ligamiento (LD) y el más nuevo de los métodos de cartografía, es un estudio de poblaciones utilizado para ligar polimorfismos de secuencias (por lo general, SNP) a las variaciones fenotípicas en función del desequilibrio de ligamiento (asociación no aleatoria entre alelos en *loci* ligados) sin necesidad de crear poblaciones de cartografía segregantes estructuradas. Al confeccionar un mapa de SNP cercanos, es posible determinar las ubicaciones genómicas de los genes asociados con una característica sin necesidad de clonar los genes. Los SNP causales identificados por medio de los mapas de asociación de alta densidad, por lo general, se confirman a posteriori mediante ensayos funcionales. Existen tres ventajas principales de la cartografía de asociación por sobre el análisis de ligamientos: mapas de mayor resolución, menos tiempo de investigación y mayor cantidad de alelos.⁴²

La implementación de estas estrategias se ha restringido, principalmente, a las instituciones de fitomejoramiento.

APÉNDICE 3

to, que además han desarrollado la capacidad de producir información secuencial para determinados cultivos. Los programas de conservación y utilización de recursos fitogenéticos a nivel nacional contribuyen cada vez más a ampliar los conocimientos y a mejorar la capacidad general de la biotecnología vegetal, tal como se documenta en los informes de países publicados como parte de este Segundo Informe.⁴³ Las iniciativas nacionales e internacionales enfocadas a la creación de capacidad e infraestructura han contribuido a esta nueva tendencia. Sin embargo, la implementación a fondo de las estrategias de mejoramiento avanzadas, la bioinformática y las capacidades de la genómica no se ha llevado a cabo en los países en desarrollo e incluso en varios países desarrollados solo es posible mediante la colaboración con otros proyectos de genómica a nivel nacional o internacional.

Podría decirse que el desafío de todo programa de fitomejoramiento es idear las estrategias apropiadas para los numerosos escenarios posibles que exigen la integración de técnicas de biología molecular en los RFAA.⁴⁴ Por ejemplo, si bien el retrocruzamiento asistido por marcadores puede requerir unos pocos marcadores a fin de determinar el genotipo de cientos de muestras (progenie retrocruzada) para un rasgo simplemente heredado en particular, al igual que el rastreo de elementos de introgresión o las construcciones de organismos modificados genéticamente (OMG), la caracterización o huella genética, por otra parte, requeriría cientos de miles de marcadores para ser efectiva. En general, para aquellos programas caracterizados por tener una amplia diversidad de marcadores, una capacidad de procesamiento elevada y muestras de gran tamaño, sería necesario contar con un centro de servicios de investigaciones sobre genómica. Este requisito, que implica una considerable inversión inicial, probablemente explique la preponderancia de las aplicaciones de SAM en las grandes empresas multinacionales de fitomejoramiento, sin tener en cuenta las entidades financiadas con fondos públicos.

Transformación genética

Los métodos basados en ADN recombinante, es decir, las moléculas que contienen secuencias de ADN procedentes de más de una fuente, se utilizan para crear variaciones genéticas nuevas. En el ámbito del mejoramiento de cultivos, esto ha implicado la incorporación de secuencias de ADN y ARN exógenas, mediante la utilización de la biólisis

o de vectores, en el genoma del organismo receptor que, como resultado, expresa caracteres nuevos y útiles desde el punto de vista agronómico. Las nuevas variantes se denominan organismos modificados genéticamente (OMG). Las plantas transgénicas se cultivaron por primera vez a escala comercial a mediados de la década de 1990, cerca de la fecha de publicación del Primer Informe. Desde entonces, los OMG cultivados comercialmente se encuentran en cuatro cultivos básicos: maíz, soja, canola y algodón. Para el año 2008, en conjunto, representaban más del 99,5 por ciento de la producción de cultivos transgénicos (James, 2008).⁴⁵ Curiosamente, solo dos eventos de transformación, es decir, la tolerancia a herbicidas y la resistencia a insectos o una combinación de ambas, se expresaron en estos cultivos. Esto significa que más de 25 años después de la primera producción exitosa de plantas transgénicas, el alcance de la utilidad de la transformación genética como estrategia del mejoramiento de cultivos de rutina continúa siendo limitada, a pesar del potencial evidente de esta tecnología. Entre las desventajas se incluye la ausencia de sistemas eficientes de regeneración independientes del genotipo para la mayoría de los cultivos. Además, probablemente el factor más limitante de todos sean las restricciones de derecho de propiedad intelectual (DPI) asociadas. En aquellos casos donde los OMG han permanecido dentro del dominio exclusivo de las empresas de mejoramiento del sector privado en los países desarrollados, varios componentes de las iniciativas de investigación y desarrollo se han restringido (con patentes) en la fase previa a la producción de cultivos transgénicos. Las nuevas e interesantes tendencias, que en última instancia podrían precipitar la revisión del lugar de las protecciones DPI en el ámbito de los RFAA, muestran que actualmente se están cultivando OMG en los países en desarrollo, tal como el cultivo de soja transgénica en América del Sur y el cultivo de algodón transgénico en India y China (James, 2008; Glover 2007,⁴⁶ 2008⁴⁷).

A medida que más países en desarrollo adquieran la capacidad requerida para responder a las normas reglamentarias que rigen el cultivo de OMG, especialmente aquellas alineadas con las normas de bioseguridad, tal como se enuncian en el Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad, será necesario impulsar iniciativas conjuntas orientadas a la creación de capacidad para analizar las restricciones de DPI que efectivamente obstaculizaron la exploración de todo el potencial de la transgénesis en los RFAA. En adelante, se supone que las iniciativas de investi-

gación, por otra parte, se concentrarán en el perfeccionamiento de los sistemas de regeneración vegetal y, lo que es muy importante, en la ampliación del alcance de los caracteres agronómicos que se pueden mejorar mediante la transformación genética. Por el momento, reunir varios eventos de transformación y lograr que éstos expresen fenotipos en un organismo receptor sigue siendo poco práctico. La eliminación de las barreras tecnológicas será clave para aprovechar la transformación genética y abordar los caracteres poligénicos, en especial aquellos relacionados con el cambio climático y las variaciones, como las sequías y la salinidad. La eliminación de esta limitación también será importante para las pirámides genéticas.

A3.7 Bioinformática

Una consecuencia de la relativa facilidad de generar datos genéticos moleculares ha sido la necesidad de contar con sistemas de almacenamiento, análisis y recuperación de datos electrónicos con capacidad en constante aumento. Actualmente, los requisitos de almacenamiento de datos se calculan en *petabytes*, cerca de tres órdenes de magnitud más que lo que se solía utilizar en 1995. Una tendencia para la reducción de costos en las instalaciones de bioinformática es que los costosos ordenadores centrales utilizados para las tareas bioinformáticas en los centros de genómica se han reemplazado en gran medida por torres de servidores informáticos que comprenden ordenadores o servidores estándares disponibles comercialmente, utilizados en conjunto para proporcionar un nivel igual o incluso mayor de capacidad de procesamiento informático a un menor costo y con redundancia integrada en la unidad central de procesamiento (CPU). Estas unidades están acondicionadas para garantizar una mayor confiabilidad, incluso cuando una unidad falla. La posibilidad de acceso a estos sistemas de almacenamiento y análisis es cada vez mayor gracias a la incorporación de servidores de Internet dentro del sistema.

Es la combinación de la ingeniería de programas creativos, el programa de base de datos y los sistemas operativos de código abierto, el advenimiento de Internet, con posibilidades de acceso y uso desde cualquier sitio, y la inversión tanto pública como privada, lo que ha hecho posible la existencia de herramientas confiables para administrar laboratorios de genómica y, por lo tanto, la capacidad de almacenar, analizar, distribuir e interpretar los enormes

conjuntos de datos generados en los proyectos de secuenciación y en las actividades de biología molecular.

Constantemente se necesitan nuevos algoritmos y estadísticas para estudiar las relaciones entre los conjuntos de datos. Los mapas son los formatos utilizados con más frecuencia para presentar información genética. Además, el desarrollo de programas para la producción y visualización de mapas ha seguido siendo uno de los campos más activos de investigación y desarrollo en biología molecular. Los avances en materia de bioinformática continuarán siendo necesarios para facilitar el análisis de datos genómicos y la integración de la información genómica con datos provenientes de campos relacionados, como la transcriptómica, la proteómica, la metabolómica y la fenómica.

Los proyectos conjuntos sobre genomas han posibilitado la creación de bases de datos que almacenan información de manera centralizada, pero a las que se puede acceder desde cualquier parte del mundo. Una parte fundamental de estas iniciativas son las colecciones de recursos genómicos, cuyos inventarios y acceso son parte de la base de datos sobre genomas. La financiación de estos proyectos se atribuye en gran medida al sector público (a nivel nacional e internacional).

A3.8 Consideraciones normativas, organizativas y legales

El principal instrumento internacional con influencia en la conservación y utilización de recursos fitogenéticos desde 1995 es el Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (TIRFAA), que se adoptó en 2001 y entró en vigencia en 2004.⁴⁸ Este acuerdo, ideado para mejorar lo dispuesto en el Convenio sobre la Diversidad Biológica, obliga a las partes firmantes a elaborar legislación y reglamentaciones para cumplir los mandatos de facilitar la conservación, el intercambio y la utilización de los recursos genéticos cubiertos por el TIRFAA. Posteriormente, se desarrolló un mecanismo de financiación especializado para el TIRFAA y, en 2004, se creó el Fondo Mundial para la Diversidad de Cultivos (GCDT). Actualmente, el GCDT recauda fondos y financiación adicional para actualizar las instalaciones nacionales donde se conservan colecciones de germoplasma, crear capacidad y fortalecer los sistemas de información. Se le ha dado un enfoque especial al desarrollo conjunto

APÉNDICE 3

de estrategias regionales y mundiales de conservación de cultivos.⁴⁹ Uno de los avances más importantes en materia de intercambio de RFAA desde la publicación del Primer Informe ha sido el Acuerdo Normalizado de Transferencia de Material (ANTM), que pone a disposición de las partes contratantes un sistema multilateral para llevar a cabo el intercambio de germoplasma de cultivos.

Los órganos de financiación de investigaciones a nivel nacional e internacional, en reconocimiento de la necesidad de colaboración para llevar a cabo proyectos de genómica exitosos, han adaptado algunos de sus programas de financiación para costear específicamente iniciativas conjuntas. Entre los resultados, se pueden mencionar inversiones públicas en centros de secuenciación, bases de datos genómicos y herramientas para análisis y acceso público, generalmente por Internet. La capacidad de sostener o incrementar estas inversiones dependerá del estado de las economías mundiales y nacionales. Si bien se registró una baja en el producto bruto mundial durante 2009, la primera desde la Segunda Guerra Mundial, las perspectivas parecen estar mejorando con vistas a una recuperación en 2010.⁵⁰

Los avances técnicos logrados en materia de caracterización de la impronta genética pueden tener relevancia para la protección de la propiedad intelectual, a tal punto que es posible identificar cultivares sin ningún tipo de ambigüedad. La caracterización genética mediante SNP será precisa y se podrá aplicar en un proceso de alta capacidad de procesamiento; sin embargo, la aplicación generalizada aún se encuentra limitada a los cultivos con bases de datos de SNP. Hasta la fecha, es más habitual la utilización de plataformas de caracterización genética basadas en marcadores SSR o, incluso, marcadores PLFA y APAA.⁵¹

Las inquietudes en cuanto a la protección de los DPI de los inventores en iniciativas relacionadas con los RFAA inicialmente estaban restringidas a la salvaguarda de los derechos del obtentor (PBR). A nivel nacional, esta protección se brindaba por medio de diferentes tipos de leyes, que conferían DPI sobre nuevas variedades de cultivos al fitomejorador. Con el fin de armonizar estas leyes nacionales, en 1961 se firmó el Convenio de la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV) y sus leyes revisadas de 1972, 1978 y 1991. Posteriormente, le siguió el Acuerdo de la OMC sobre los Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio (ADPIC), que se firmó en 1994. El ADPIC contemplaba ciertas disposiciones específicas para la pro-

tección de los DPI relacionados con las innovaciones en materia de producción agrícola (cultivos y animales). Las iniciativas para fomentar la elaboración de DPI tanto a nivel nacional como internacional siempre tuvieron el claro objetivo de facilitar el acceso a las invenciones de una manera justa y equitativa. Es evidente que los resultados netos de tales intervenciones bien intencionadas han sido más restricciones al acceso.

Las invenciones de biotecnología, incluidas aquellas relacionadas con los RFAA, han generado multitud de patentes que prácticamente ha paralizado las iniciativas de acceso a las innovaciones biotecnológicas. Desde la publicación del Primer Informe, el perfil de la biotecnología en el ámbito de los alimentos y la agricultura ha seguido creciendo, en especial con la cuasi omnipresencia de los cultivos de OMG tanto en la producción comercial como en las etapas de ensayo en varias partes del mundo. Las protecciones de patentes a los cultivos e incluso a los materiales utilizados para desarrollarlos, tales como las secuencias de genes quiméricos, han sido notablemente restrictivas. Por ejemplo, son estas cuestiones de DPI las que han impedido el uso generalizado del arroz modificado genéticamente con alto contenido de beta-caroteno, el arroz dorado, como bien público. Si se consideran los imperativos morales de salvaguardar la seguridad alimentaria, resulta sorprendente que no se hayan invertido más recursos en eliminar estos obstáculos.

Las opciones de acceso a las biotecnologías patentadas por parte de las organizaciones nacionales de investigación se ven severamente limitadas, dado que, por lo general, los costos son prohibitivos. Las alternativas, que normalmente requieren acceder a las tecnologías sin permiso, implicarían la utilización de lagunas legales en las jurisdicciones de variedades protegidas y patentes. Las entidades públicas de investigación a nivel internacional, en particular los centros del Grupo Consultivo para la Investigación Agrícola Internacional, también han logrado resultados satisfactorios en la negociación de derechos de acceso gratuitos. Una iniciativa regional pionera en este tema, la Fundación Africana de Tecnología Agrícola, también ha conseguido negociar el acceso a las biotecnologías protegidas por DPI que afectan la capacidad de los programas nacionales de aprovechar todo el potencial de sus RFAA. En general, las iniciativas actuales para acceder a tecnologías sometidas a regímenes de DPI han sido graduales, costosas y claramente exigen

una colaboración internacional concertada. El punto de partida será la enseñanza y la creación de capacidad para tratar las complejas cuestiones inherentes a este tema.

A3.9 Perspectivas para el futuro

El futuro presentará varios desafíos en términos de rendimiento de los cultivos, que podrán resolverse eficazmente con una combinación del desarrollo de variedades de cultivo robustas y resistentes (modificando genomas de cultivos mediante el fitomejoramiento, preferentemente con enfoques moleculares eficientes) y con la introducción de conjuntos de factores de mitigación en las prácticas de manejo agronómico. Con el propósito de aumentar la confiabilidad de las predicciones en cuanto al rendimiento de los cultivos sobre la base de información genética molecular, será necesario que las nuevas herramientas que permiten una vinculación más precisa entre los perfiles moleculares (genotipos) y el rendimiento (fenotipo) estén a disposición del investigador.

Las deficiencias de conocimiento abundan, y deben resolverse. Por ejemplo, las sutilezas de la plasticidad fenotípica frente a un medio ambiente cambiante y los niveles de redundancia genética que caracterizan a los sistemas biológicos continúan siendo desconocidos. La aplicación concertada de las numerosas herramientas y procedimientos actualmente disponibles y en proceso de desarrollo envuelve una gran promesa para descifrar dichos procesos y, en consecuencia, para permitir una ordenación más eficiente de los RFAA ante los desalentadores desafíos que presenta el clima cada vez más variable, la población mundial en aumento y las demandas concurrentes de desviar productos alimenticios a usos no tradicionales en las industrias de combustibles, piensos y fibras.

El progreso acumulado logrado hasta la fecha en el campo de la genómica y sus iniciativas tecnológicas y científicas auxiliares es solo el comienzo para comprender la forma en que un genotipo confiere un conjunto específico de atributos a un organismo viviente. Actualmente, es posible realizar la disección de un fenotipo complejo y determinar en que parte del cromosoma se ubican físicamente los genes individuales o, más correctamente, los *loci* de caracteres cuantitativos (LRC). La información sobre los marcadores de ADN vinculada a los LRC representa una potente herramienta de diagnóstico que permite al mejorador seleccionar las introgresiones específicas de interés. A medida que

se clonen e identifiquen más genes de interés, o se confeccionen más mapas genéticos y se comprendan mejor sus contribuciones a los complejos sistemas biológicos, habrá muchas oportunidades de realizar "síntesis" creativas de variedades nuevas. Es posible que alguna de estas oportunidades implique el uso de enfoques de ingeniería genética, donde la nueva información sobre genes, la regulación génica y la respuesta de las plantas al medio ambiente puedan emplearse en formas innovadoras para perfeccionar las variedades vegetales existentes, a fin de que utilicen los recursos con más eficiencia, proporcionen un mayor valor nutritivo o simplemente tengan un mejor sabor.

Una necesidad constante será la aplicación de las capacidades y estrategias de mejoramiento de los cultivos con tecnología molecular a los cultivos poco estudiados o que no reciben financiación suficiente (los llamados cultivos huérfanos), pero que irónicamente continúan siendo los baluartes para la seguridad alimentaria para gran parte de la humanidad. Lograr la aplicación generalizada y rutinaria de las nuevas biotecnologías en los cultivos huérfanos, con el potencial que ello encierra en cuanto a la repercusión extendida y positiva en el bienestar de las personas, representa, por lo tanto, una oportunidad irresistible no solo para quienes se dedican a los bienes públicos sino para la humanidad en general. El inaceptablemente elevado nivel de inseguridad alimentaria actual no debe continuar ni debe empeorar; la ordenación prudente de los RFAA, junto con el aprovechamiento de las nuevas herramientas y avances, es la clave para revertir esta tendencia.

Los pasos inmediatos incluyen la inversión de recursos en estudios empíricos con el objetivo de alcanzar una comprensión de los procesos biológicos que sustentan los fenotipos de los cultivos propiamente dichos.⁵² Hasta la fecha, las especies secuenciadas o que están en proceso de secuenciación representan solo a 13 familias de plantas. Existe una necesidad imperiosa de hacer incursiones en las más de 600 familias de plantas para las que no se han iniciado tareas de secuenciación de genomas, dado que los beneficios de los datos sobre secuencias genómicas completas están demostrando ser incalculables. Precisamente, muchas de las especies de cultivos huérfanos, entre otras, deben ser candidatas para la secuenciación.

Ninguno de estos avances en innovaciones tecnológicas reduce la necesidad de las colecciones de recursos fitogénicos. De hecho, con el propósito de hacer el mejor uso de las herramientas nuevas, puede que sea necesario implemen-

APÉNDICE 3

tar nuevas estrategias para capturar una diversidad genética incluso mayor y mantener dicha diversidad durante la conservación y regeneración de muestras. Los bancos de genes siguen siendo fundamentales y necesitan más respaldo.⁵³

Además, el progreso paralelo en el análisis genómico de patógenos y plagas de las plantas debería generar un conocimiento más profundo sobre los mecanismos de resistencia a enfermedades y plagas. Las variaciones y el cambio climático a nivel mundial presentarán algunos desafíos predecibles a los sistemas de producción agrícola (por ejemplo, temperaturas elevadas, sequías, inundaciones, vientos más fuertes y pestes y patógenos nuevos y más frecuentes). Para abordar estos desafíos, los investigadores deberían utilizar todas las estrategias y herramientas moleculares disponibles, no solo para mejorar la productividad sino también para reducir el impacto en el medio ambiente, aumentar la retención de carbono y sustituir los combustibles fósiles.⁵⁴

Bibliografía

- 1 **Metzker, M. L.** 2010. *Sequencing technologies—the next generation*. *Nature Reviews Genetics* 11:31-46. Si bien este estudio se centra principalmente en la genómica humana, las conclusiones sobre las capacidades de secuenciación son relevantes para la genómica de las plantas.
- 2 **Delseny, M.** 2004. *Re-evaluating the relevance of ancestral shared synteny as a tool for crop improvement*. *Current Opinions in Plant Biology* 7:126-131.
- 3 La caracterización del progreso en tecnología genómica como una serie de ondas, tal como se describe en este párrafo, deriva de esta reseña: **Borevitz, J. O. y Ecker, J. R.** 2004. *Plant genomics: The third wave*. *Annu. Rev. Genom. Hum. Genet.* 5:443-447. Si bien este estudio de los logros pasados y futuros en el ámbito de la genómica de las plantas se basa en el avance con *Arabidopsis thaliana*, hay disponible mucha más información de importancia para la genómica de las plantas en general.
- 4 **The Arabidopsis Genome Initiative.** 2000. *Analysis of the genome sequence of the flowering plant Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 408:796-815.
- 5 **Yu, J. et al.** 2002. *A draft sequence of the rice genome (Oryza sativa ssp. indica)*. *Science*, 296:79-92.
- 6 **Goff, S. A. et al.** 2002. *A draft sequence of the rice genome (Oryza sativa ssp. japonica)*. *Science*, 296:92-100.
- 7 **Tuskan, G. A. et al.** 2006. *The genome of black cottonwood, Populus trichocarpa (Torr. & Gray)*. *Science*, 313:1596-1604.
- 8 <http://medicago.org/genome/>.
- 9 Ver <http://www.phytozome.net/sorghum>, <http://www.phytozome.net/grape.php> y <http://www.phytozome.net/papaya.php>.
- 10 <http://www.phytozome.net/soybean.php>.
- 11 <http://genome.jgi-psf.org/Araly1/Araly1.info.html>.
- 12 <http://brachypodium.pw.usda.gov/>.
- 13 <http://maizesequence.org/index.html>.
- 14 Dos buenos puntos de ingreso para acceder a bases de datos de secuencias y a buscadores de genomas de plantas son PlantGDB en <http://www.plantgdb.org/> y Phytozome en <http://www.phytozome.net/>.
- 15 Los taxones mencionados se tomaron del sitio del NCBI Entrez Genome Project en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/leuks.cgi?taxgroup=11:|12:Land%20Plants&p3=12:Land%20Plants>.
- 16 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucgss.s>
- 17 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/dbEST_summary.html.
- 18 **Strausberg, R. L., Levy, S. y Rogers, Y. H.** 2008. *Emerging DNA sequencing technologies for human genomic medicine*. *Drug Discovery Today* 13:569-577. Si bien se presentan en el contexto de la genómica humana, las tres tecnologías de secuenciación más importantes descritas se utilizan actualmente para la

- investigación de plantas cultivadas, y el pronóstico de las tecnologías emergentes es igualmente relevante.
- ¹⁹ **Metzker, M. L.** 2010. *Sequencing technologies—The next generation*. Nature Reviews Genetics 11:31-46. Una reseña más reciente de las mismas tres tecnologías, junto con información detallada sobre una nueva plataforma que se espera para 2010.
- ²⁰ **Angaji, S. A.** 2009. *Single nucleotide polymorphism genotyping and its application on mapping and marker-assisted plant breeding*. African Journal of Biotechnology, 8:908-914.
- ²¹ **Jones, E. et al.** 2009. *Development of single nucleotide polymorphism (SNP) markers for use in commercial maize (Zea mays L.) germplasm*. Molecular Breeding, 24:165-176.
- ²² **Vezzulli, S. et al.** 2008. *An SNP transferability survey within the genus Vitis*. BMC Plant Biology 8:128-137. Se utilizó información genética sobre un cultivar de *Vitis vinifera* que disponía de información secuencial para informar a otros cultivares y formas silvestres estrechamente relacionados con esa especie, sin necesidad de repetir la secuenciación. Sin embargo, la utilidad fue limitada para otras especies de *Vitis*.
- ²³ **Spooner, D., van Treuren, R. y de Vicente, M. C.** 2005. *Molecular markers for genebank management*. Boletín técnico número 10 del IPGRI. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (ahora *Bioversity International*, Inc.). Roma.
- ²⁴ **Jaccoud, D. et al.** 2001. *Diversity arrays: A solid state technology for sequence information independent genotyping*. Nucleic Acids Research 29:e25-e31. Describe la técnica con un estudio de caso sobre su utilización con el arroz.
- ²⁵ **Risterucci, A.-M. et al.** 2009. *Development and assessment of Diversity Arrays Technology for high-throughput DNA analyses* en Musa. Theor. and Applied Genet., 119:1093-1103.
- ²⁶ **González-Martínez, S. C., Krutovsky, K. V. y Neale, D. B.** 2006. *Forest tree population genomics and adaptive evolution*. New Phytologist 170:227-238. Proporciona una reseña de las diferencias entre tipos de marcadores.
- ²⁷ **FAO.** 2001. *Forest genomics for conserving adaptive genetic diversity*. Documento elaborado por Krutovskii y D. B. Neale. Documentos de trabajo sobre recursos genéticos forestales, documento de trabajo FGR/3 (julio de 2001). Servicio de Desarrollo de Recursos Forestales, Dirección de Recursos Forestales. FAO, Roma (no publicado).
- ²⁸ **Holderegger, R., Kamm, U. y Gugerli, F.** 2006. *Adaptive versus neutral genetic diversity: Implications for landscape genetics*. Landscape Ecology 21:797-807.
- ²⁹ Por ejemplo, se proporciona un análisis exhaustivo de los diversos tipos de marcadores y sus cuantiosos usos en **De Vicente, M. C. et al.** 2006. *Genetic characterization and its use in decision-making for the conservation of crop germplasm*. Págs. 129-138 en J. Ruane and A. Sonnino (redactores). *The role of biotechnology in exploring and protecting agricultural genetic resources*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.
- ³⁰ **Varshney, R. K. et al.** 2007. *Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys*. Plant Science, 173:638-649.
- ³¹ Op. cit. Nota al pie 4.
- ³² **Deleu, W. et al.** 2009. *A set of EST-SNPs for map saturation and cultivar identification in melon*. BMC Plant Biology, 9:90-98.
- ³³ **Bonin, A. et al.** 2007. *Population adaptive index: A new method to help measure intraspecific genetic diversity and prioritize populations for conservation*. Conservation Biology 21:697-708. Combina un análisis de las diferencias existentes entre la diversidad

APÉNDICE 3

- neutra y adaptativa con la presentación de un "índice de adaptación de poblaciones", propuesto como un modo de permitir la utilización de varios marcadores moleculares distribuidos por todo el genoma (una medida posible solo gracias a los avances en biotecnología). Esto, a su vez, permitirá señalar con precisión las variaciones localizadas en el patrón de diversidad para detectar los loci supuestamente bajo selección natural y, por ende, de relevancia adaptativa.
- ³⁴ **Scarelli, N. et al.** 2006. *Farmers' use of wild relative and sexual reproduction in a vegetatively propagated crop. The case of yam in Benin. Molecular Ecology*, 15:2421-2431.
- ³⁵ **Gómez-Campo, C.** 2006. *Erosion of genetic resources within seed genebanks: The role of seed containers. Seed Science Research*, 16:291-294.
- ³⁶ **Pérez-García, F., González-Benito, M. E. y Gómez-Campo, C.** 2007. *High viability recorded in ultra-dry seeds of Brassicaceae after almost 40 years of storage. Seed Science and Technology* 35:143-153. Este trabajo presenta datos sobre el impacto de la humedad y la calidad de los materiales de almacenamiento en la longevidad de las semillas.
- ³⁷ **Jansen, J. et al.** 2006. *A note on the measurement of genetic diversity within genebank accessions of lettuce (Lactuca sativa L.) using AFLP markers. Theor. and Applied Genet.*, 112:554-561.
- ³⁸ **Motilal, L. A. et al.** 2009. *Increasing accuracy and throughput in large-scale microsatellite fingerprinting of cacao field germplasm collections. Tropical Plant Biology*, 2:23-37.
- ³⁹ **Rice, N. et al.** 2006. *DNA banks and their role in facilitating the application of genomics to plant germplasm. Plant Genetic Resources* 4:64-70. Australian Plant DNA Bank: <http://www.dnabank.com.au/>; NIAS DNA Bank: <http://www.dna.affrc.go.jp/>; RBG Kew DNA Bank: <http://data.kew.org/dnabank/homepage.html>; Banco de ADN en Berlín-Dahlem, Botanic Garden and Botanical Museum (BGBM): <http://www.bgbm.org/bgbm/research/dna/>.
- ⁴⁰ **Moose, S. P. y Mumm, R. H.** 2008. *Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. Plant Physiology*, 147:969-977.
- ⁴¹ **Guimarães, E. P. et al.** (redactores). 2007. *Marker-assisted selection: Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish.* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.
- ⁴² **Zhu, C. et al.** 2008. *Status and prospects of association mapping in plants. The Plant Genome*, 1:5-20.
- ⁴³ Por ejemplo, según los informes de países, los marcadores moleculares se encuentran en uso para el mejoramiento de los cultivos en Argentina, Azerbaiyán, Brasil, China, Croacia, Egipto, Indonesia y República Checa.
- ⁴⁴ **Bagge, M. y Lübberstedt, T.** 2008. *Functional markers in wheat: Technical and economic aspects. Molecular Breeding*, 22:319-328.
- ⁴⁵ **James, C.** 2008. *Global status of commercialized biotech/GM crops.* 2008. Resumen número 39 del Servicio Internacional para la Adquisición de Aplicaciones Agrobiotecnológicas (ISAAA). Disponible en www.isaaa.org/resources/publications/briefs/39/default.html.
- ⁴⁶ **Glover, D.** 2007. *Monsanto and smallholder farmers: A case-study on corporate accountability.* Documento de trabajo 277 del IDS. Universidad de Sussex, Reino Unido, Instituto de Estudios sobre Desarrollo.
- ⁴⁷ **Glover, D.** 2008. *Made by Monsanto: The corporate shaping of GM crops as a technology for the poor.* Documento de trabajo 11 de STEPS. Brighton: STEPS Centre. Disponible en www.steps-centre.org/PDFs/GM_Crops_web_final_small.pdf.
- ⁴⁸ Ver Capítulo 7.
- ⁴⁹ Ver Capítulo 6 y Apéndice 4.
- ⁵⁰ **Naciones Unidas.** 2010. *Informe de Situación y Perspectivas de la Economía Mundial, 2010.*

Departamento de Asuntos Económicos y Sociales, Naciones Unidas. Nueva York, Estados Unidos de América.

- ⁵¹ **Romero, G., Adeva, C. y Battad II, Z.** 2009. *Genetic fingerprinting: Advancing the frontiers of crop biology research*. Philippine Science Letters 2:8-13. Este informe resume el estado de la implementación de la caracterización genética con diferentes marcadores, con ejemplos tomados de cultivos y situaciones en las Filipinas.
- ⁵² **Nelson, R. J., Naylor, R. L. y Jahn, M. M.** 2004. *The role of genomics research in improvement of "orphan" crops*. Crop Science, 44:1901-1904.

⁵³ Ver Capítulos 3 y 4. Para una promoción abierta de estrategias de recolección y conservación más amplias, ver **Walck, J. y Dixon, K.** 2009. *Time to future-proof plants in storage*. Nature, 462:721.

⁵⁴ El informe de país de Brasil, en su Capítulo 9, ofrece un análisis muy efectivo de estas cuestiones y un fundamento sobre la contribución de recursos genéticos al desarrollo sostenible y la seguridad alimentaria.