

Biotecnologia i millora

nov. 29, 2021 |

En aquesta segona part dedicada a la millora i la biotecnologia fem èmfasi en les noves tecnologies per incrementar l'eficàcia en la selecció utilitzant aproximacions genòmiques, la identificació de gens d'interès per l'agricultura i la modificació d'aquests gens mitjançant les tecnologies d'edició gènica.

NOVES POBLACIONS DE MAPEIG

Com es va descriure en l'anterior article 'Els marcadors moleculars en la millora genètica', les poblacions bi-parentals presentaven la limitació del baix nombre de recombinacions entre els dos parentals. Per solucionar aquesta situació es va introduir el mapeig d'associació com a eina complementària.

En els darrers anys, altres tipus de poblacions de mapeig basades en aquestes dues principals, han anat desenvolupant-se per incrementar la significació estadística en la relació marcador-caràcter. Dos exemples són les poblacions MAGIC i NAM (Figura 1).

Les poblacions MAGIC (Multiparent Advanced Generation InterCross) es generen per l'encreuament de diversos parentals i la posterior autopol·linització per generar línies recombinants. Comparat amb les poblacions bi-parentals, l'ús de diversos parentals en els encreuaments inicials permet incrementar el nombre de recombinacions i, per tant, la resolució del mapeig i la diversitat al·lèlica. En les poblacions NAM (Nested Association Mapping) diversos genotips es creuen amb la mateixa línia de referència per obtenir famílies segregants "interconnectades". L'avantatge principal d'aquestes poblacions és la possibilitat d'incorporar un alt nombre d'al·lels en un mateix fons genètic, permetent un mapeig més acurat al combinar el mapeig bi-parental i l'anàlisi d'associació.

Les varietats tradicionals presenten un gran interès per la generació d'aquests tipus de poblacions, sobretot per la seva adaptació a diferents ambients, diversitat genètica i

resiliència a estressos biòtics i abiòtics.

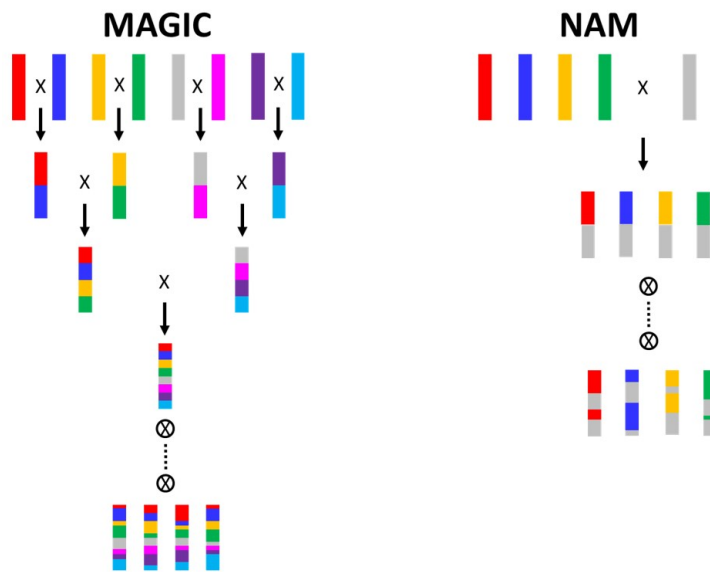


Figura 1. Esquema de l'obtenció de poblacions MAGIC i NAM

GENS CANDIDATS: UNA NOVA ESTRATÈGIA PER L'ESTUDI DE CARÀCTERS COMPLEXOS

Un dels principals objectius de la genètica molecular es la identificació i aïllament dels gens que controlen caràcters d'interès. Hi ha tres estratègies per la clonació d'aquests gens: la clonació posicional, la mutagènesis insercional i els gens candidats (GC). En aquest apartat abordarem aquesta darrera estratègia.

Per la identificació de GCs es parteix de la seqüència de gens de funció coneguda que podria correspondre amb el gen d'interès. Els GCs poden ser gens estructurals o implicats en la regulació de vies metabòliques. La hipòtesi és que una variació en aquests gens pot explicar la variació fenotípica. L'estratègia dels GCs es basa en tres passos:

- 1) Elecció dels GC basada en estudis previs de la funció dels gens o en la seva posició en mapes genètics.
- 2) Estudi de variacions en la seqüència dels GCs per associar-la al caràcter d'interès en un conjunt de varietats.
- 3) Experiments complementaris per confirmar l'associació real entre la variació en la seqüència i l'expressió fenotípica.

L'estratègia de CGs s'adapta millor a l'estudi de caràcters complexos que no pas la clonació

posicional i la mutagènesis incercial pel nombre de gens implicats en la expressió del caràcter, el seu efecte parcial i per no ser necessari conèixer la seva posició genètica. La seqüenciació de genomes i la creació de bases de dades d'expressió gènica ha permès grans avenços en la identificació de GCs gràcies a l'aplicació de nous mètodes de computació per prioritzar l'elecció de GCs.

L'EDICIÓ GÈNICA

L'edició gènica permet la manipulació específica d'una seqüència diana per potenciar el rendiment d'un caràcter concret substituint els mètodes de la millora genètica clàssica. Al contrari que amb l'ús de plantes transgèniques que no permeten conèixer el lloc on s'integra el transgen, l'edició gènica modifica el gen *in situ* i, per tant, no implica l'ús de gens foranis.

El sistema més conegut és CRISPR/Cas9, basat en un complex sistema immunitari que protegeix els bacteris d'infeccions víriques. CRISPR, de l'anglès 'clustered regularly interspaced short palindromic repeats' és una seqüència d'ADN que conté petits fragments de seqüència de virus que prèviament han infectat el bacteri amb l'objectiu de reconèixer el virus en una propera infecció. Les proteïnes Cas són endonucleases amb la funció de tallar l'ADN en llocs concrets. Quan es produeix una nova infecció, les proteïnes Cas reconeixen aquestes seqüències i tallen el material genètic del virus.

Aquesta propietat de reconèixer una determinada seqüència, tallar-la y reparar-la seguint un patró específic s'ha adoptat per l'edició gènica (Figura 2). En primer lloc es dissenya una molècula d'ARN (ARN guia) específica per una seqüència de l'ADN, que serà inserida a una cèl·lula amb la proteïna Cas9. Una vegada dins de la cèl·lula, pel mecanisme de complementarietat de l'ADN, la molècula ARN guia reconeix el lloc exacte del genoma on Cas9 ha de tallar. En una segona etapa s'activen els mecanismes de reparació de l'ADN tallat i es permet la incorporació d'una seqüència concreta que s'ha d'incorporar a la cèl·lula.

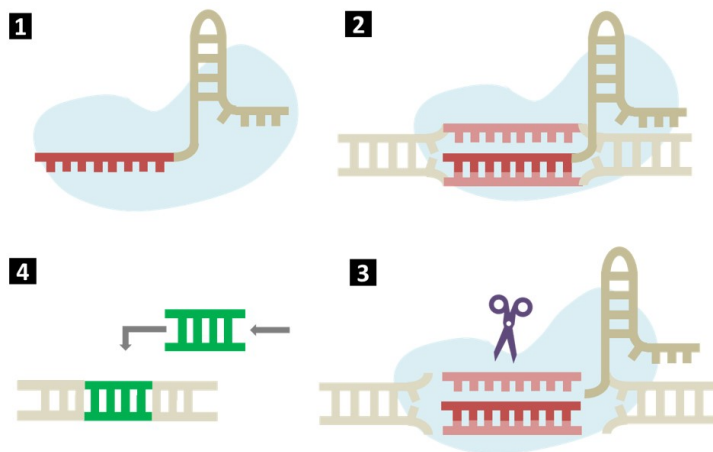


Figura 2. Tècnica CRISPR/Cas9. 1) Es dissenya una molècula ARN guia amb la seqüència de l'ADN que es vol modificar i s'incorpora a la cèl·lula junt amb la proteïna Cas9. 2) L'ARN guia s'acoba a la seqüència diana. 3) Es produeix el tall de la seqüència diana per part de la proteïna Cas9. 4) S'incorpora el fragment d'ADN a reemplaçar i la maquinària cel·lular repara els talls.

LA SELECCIÓ GENÒMICA

Els mètodes de selecció usades en la millora de cereals han evolucionat ràpidament al llarg del temps. La millora clàssica basada en la selecció fenotípica dels caràcters, principalment morfològics o visuals, va ser la principal metodologia usada pels milloradors durant el segle XX. El principal inconvenient d'aquest procés es presenta quan els caràcters a avaluar depenen molt de les condicions ambientals. El desenvolupament de la biologia molecular va permetre l'ús de marcadors basats en la seqüència o polimorfismes de l'ADN, va néixer la selecció assistida per marcadors (MAS). L'inconvenient d'aquest mètode és que depèn del lligament genètic del caràcter al marcador i només és vàlid per caràcters controlats per un o pocs gens amb un gran efecte. Malauradament, la majoria de caràcters agronòmics són quantitius i estan controlats per molts gens, de manera que noves metodologies de selecció són necessàries. La disponibilitat de plataformes de genotipat d'alta densitat ha revolucionat la millora vegetal amb noves eines per la predicció i selecció genòmica. La selecció genòmica es refereix a la selecció de genotips utilitzant la informació genòmica a gran escala per estimar els efectes de tots els gens que controlen un caràcter simultàniament i predir els valors en la descendència (Figura 3). A diferència de la selecció assistida, la selecció genòmica porta una important base estadística i requereix càlculs més complexos.

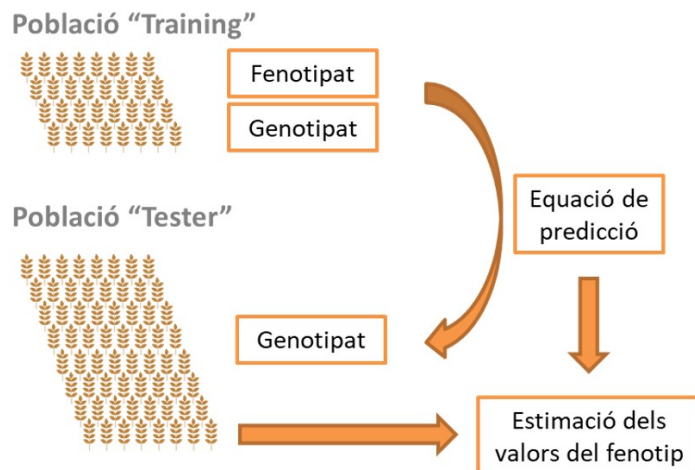


Figura 3. Selecció genòmica.

Per dur a terme un programa de selecció genòmica es parteix de dues poblacions relacionades. La població "training" (TR) i la població "tester" (TS). La TR ha de presentar variabilitat genètica, a més d'individus de la mateixa generació en la que s'aplicarà la selecció (si la selecció s'aplica en la generació F6, la TR haurà de presentar individus en F6). Aquesta població es fenotipa i genotipa massivament per establir una equació de predicció que associï el caràcter estudiat amb els marcadors. Pel contrari, la TS solsament es genotipa de la mateixa manera que la TR i s'aplica l'equació establida en la TR per estimar el valor del caràcter en cada individu de la població.

SPEED BREEDING

El terme "Speed Breeding" es refereix a l'avançament ràpid de generacions en condicions controlades. Aquests protocols són considerats una bona aproximació pel desenvolupament de noves poblacions de mapeig i per avançar les primeres generacions dels programes de millora, assistides per marcadors moleculars, i així estalviar temps als milloradors, tot reduint la longitud dels cicles de millora seleccionant els millors individus. Aquesta tècnica es basa en l'extensió del fotoperíode usant potents llums LED a una temperatura adequada pel creixement. Algunes investigacions en cereals han aconseguit arribar fins a 6 generacions en un any.

FUTURES PERSPECTIVES

Per arribar a les necessitats alimentaries del futur, els productors hauran d'incrementar els

rendiments tenint en compte el canvi climàtic. La informació obtinguda a partir de la seqüenciació de genomes en cereals, junt als estudis de mapeig de precisió i clonació de gens, permetrà la identificació d'un gran nombre de marcadors moleculars i gens lligats a caràcters complexos que lideraran l'augment de rendiment en els cultius.

La reducció del cost de les noves tecnologies de seqüenciació i la gran disponibilitat de dades de seqüències en bases de dades online permetrà la reducció del temps necessari per a la identificació d'aquests gens candidats. Aleshores, projectes que anteriorment requerien més de 10 anys podran assolir-se en 1-2 anys.



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI BARI
ALDO MORO

AUTORS

JOSE MIGUEL SORIANO
IRTA Programa de Cultius Extensius
Sostenibles (Lleida)

RUBÉN RUFO
IRTA Programa de Cultius Extensius
Sostenibles (Lleida)

ALEX ESTADELLA
Università Degli Studi Di Bari Aldo Moro,
Bari, Italia