
El manejo de genes cualitativos y algunas técnicas básicas

El presente capítulo ofrece algunas técnicas que conviene describir de entrada por el abundante uso que de ellas se hace luego. También habría que poner aquí las técnicas básicas del cultivo de tejidos y de la ingeniería genética, pero por homogeneidad de tratamiento es conveniente tratarlas en los capítulos correspondientes.

7.1. La hibridación

Cuando se inicia un programa de cruzamientos, se debe suponer que el mejorador domina ya la técnica de la hibridación manual, lo que se consigue con la visita a algún Centro o equipo especializado en la especie sobre la que trabaja, cosa obligada al proyectar cualquier programa de mejora.

Es imposible ofrecer una relación, por sucinta que fuera, de los métodos concretos seguidos en distintos cultivos, dada la enorme cantidad existente de formas florales. Se da, pues, una breve indicación de los pasos generales a seguir y algunos comentarios a los mismos.

Téngase en cuenta que, como en todo, hay especies «fáciles» y especies «difíciles»; en éstas, los porcentajes de éxito, incluso para los buenos profesionales, pueden ser muy bajos. Considérese, asimismo, que una cosa es obtener semillas del cruzamiento y otra es que esas semillas germinen o que den un individuo perfectamente fértil, lo cual depende de los genotipos de los parentales (por ejemplo, de su lejanía evolutiva, de su constitución cromosómica y genética, etc.), de necesidades fisiológicas del embrión en desarrollo (se pueden necesitar, entre otras cosas, micorrizas en el medio de cultivo), etc.

Para realizar un cruzamiento ha de colocarse el polen de la planta elegida como parental masculino sobre el estigma del femenino. El polen, pues, debe estar maduro y el estigma ser receptivo. Por supuesto, hay que eliminar todo rastro de polen en la flor que vamos a fecundar, y evitar, tras realizar la polinización a mano, que le llegue polen de otra planta. El material necesario (que es absolutamente sencillo) se compone de unas pinzas de puntas finas y flexibles que ajusten perfectamente al cerrar, unas buenas tijeritas de punta fina, una lanceta apuntada y afilada, alcohol para esterilizar las puntas al cambiar de parental masculino, material para evitar la

llegada de polen (sobres parafinados, malla fina, etc.) y, si procede, etiquetas para marcar las flores fecundadas.

Las operaciones a realizar son las que siguen:

1. Comprobar el momento en el que la flor tiene las anteras a punto de estallar: es el estado ideal para la fuente de polen. Para ello deben abrirse flores en distintos estados de desarrollo. Téngase en cuenta que, aún habiendo fijado el estado correcto, un golpe de calor puede hacer que las anteras estallen prematuramente.
2. Hacer lo mismo para la receptividad del estigma de la flor que va a ser polinizada. Deben evitarse las flores inferiores y las superiores de la planta, así como los finales de racimo o espiga si tienen muchas flores. Para la comprobación del estado ideal deben polinizarse a distintas horas a lo largo de varios días (2-3 días son suficientes) flores castradas (ver punto siguiente) en el mismo estado de desarrollo.
3. La castración debe hacerse molestando lo menos posible a la flor. Debe accederse al interior del capullo, incluso, si es necesario, eliminando con cuidado cáliz y corola, antes de que las anteras se abran; con las pinzas o las tijeras han de eliminarse todos los estambres, procurando no acercarse a las anteras para evitar que éstas estallen como consecuencia de la operación (a la menor duda debe eliminarse la flor) y, por supuesto, no dañando el gineceo. *La eliminación de estambres ha de ser absoluta*; por eso, en flores de muchos pétalos y de muchos estambres, como la rosa, es preciso cortar con tijeras toda la corola, pues de otra manera no se podría asegurar el buen éxito de la operación. En otras flores basta con separar o eliminar algunos pocos pétalos, o abrirlos a lo largo de uno de ellos con lanceta. Para cada tipo de flor hay que buscar las vías más apropiadas. Casi siempre hay que realizar la castración cuando la flor es muy pequeña, cubierta aún la corola por el cáliz, que normalmente ha de eliminarse en todo o en parte. La flor castrada debe quedar recubierta por la corola, si se la ha podido mantener, o protegida de la llegada de viento o insectos con el material adecuado. *Ojo a los golpes de calor*: en una flor del tamaño adecuado para la castración pueden haber estallado las anteras, haciendo inservible la flor.
4. La fuente de polen. Aunque hay especies que producen enormes cantidades de polen y puede recolectarse y mantenerse en un recipiente apropiado, generalmente se eligen varias flores en buen estado y se va tomando de ellas conforme se necesite a lo largo de las horas de hibridación; unos minutos tras el corte, las anteras comienzan a abrirse.
5. La polinización. Cuando el estigma esté receptivo (ver punto 2), se aplica sobre él el polen de la planta masculina con lanceta, forzando el contacto, incluso raspando el estigma, y se vuelve a proteger la flor; se coloca una etiqueta con todos los datos posibles (hembra, macho, fecha y hora). Las mejores horas son las primeras de la mañana y las últimas de la tarde, nunca las horas de mayor calor o insolación. La textura de la flor es en sí misma el mejor indicador para el operario.
6. No conviene polinizar muchas flores en la misma inflorescencia y, en todo caso, las flores no polinizadas deben arrancarse. El número óptimo de flo-

res a hibridar en cada inflorescencia lo indica la práctica, el estado de la planta, etc. En las compuestas (girasol, p. ej.), con frecuencia hay que utilizar muy pocas flores por capítulo dada la dificultad de acceso a cada flor individual.

7. Si se puede trabajar en condiciones controladas (invernadero, cámara), mejor, pero hay especies que responden muy mal en esas condiciones; es preferible, entonces, trabajar en campo.
8. Para asegurar que solapen los periodos de floración de macho y hembra, debe hacerse una serie de siembras escalonadas de aquél, o de ambos si, como es el caso general, se hacen cruzamientos recíprocos.
9. No siempre es posible, pero sería ideal, elegir las líneas que van a cruzarse con al menos un marcador dominante cada una. Eso garantiza que, aunque haya habido errores en el cruzamiento y se hayan producido autofecundaciones, se localizarán los auténticos híbridos sin la menor duda al poseer éstos el carácter dominante de la línea que hace de macho. La introducción de marcadores moleculares (véase más adelante en este mismo capítulo) facilitará este cuidado, sobre todo en casos de castración demasiado dificultosa (flores minúsculas por ejemplo).
10. Casos especiales. En formas androstériles o absolutamente autoincompatibles la polinización se realiza sin castrar, pero debe prescindirse de flores apicales y tardías, y tener cuidado con golpes de calor, pues todo ello contribuye a debilitar los sistemas mencionados, produciendo flores fértiles. El empleo de marcadores dominantes o de marcadores moleculares está aquí particularmente recomendado.
11. Ni que decir tiene, debe tenerse el máximo cuidado en la identificación, manejo y conservación de las semillas obtenidas hasta su siembra.

Todo lo dicho puede aplicarse a cruzamientos interespecíficos. La diferencia estriba en el éxito, de difícil predicción en éstos últimos, ya que las esterilidades cigóticas o malformaciones en el desarrollo del embrión son la norma. En casos favorables, puede extraerse el embrión que aún está formándose y terminar de cultivarlo *in vitro*, operación conocida como *rescate de embriones* (cap. 16). Para saber si es posible a no, no hay más camino que la experimentación, que puede ser larga e ingrata. Si al realizar cruzamientos interespecíficos se obtiene un éxito comparable al conseguido entre líneas de la misma especie, o lo que hemos conseguido son autofecundaciones, o estamos manejando dos formas de la misma especie biológica aunque lleven nombres distintos.

Fin

NO 7.2. Cruzamientos complementarios

Se llaman así a los que realizamos para juntar dos o más caracteres en un mismo genotipo, normalmente en una línea pura, que es el caso que consideraremos aquí. Supongamos que las líneas **G** y **H** tienen cada una un carácter favorable que no posee la otra y que queremos unir ambos en un mismo genotipo, sin importarnos el resto de los genes de ambas líneas. Representaremos por **[G]** y **[H]** los