

Control genético de las proteínas del trigo

La calidad tecnológica y nutritiva del grano de trigo depende en gran medida de su composición proteica. Los recientes avances de la biología molecular nos abren nuevas perspectivas en la manipulación genética de dicha composición

Francisco García Olmedo y Pilar Carbonero Zalduegui

La domesticación del trigo, ocurrida hace unos 10.000 años en el suroeste asiático, constituye uno de los hechos seminales de la cultura occidental y su posterior expansión como primera cosecha mundial está íntimamente asociada al progreso del hombre. Esta posición preponderante del trigo se ha debido no sólo a sus buenas propiedades agronómicas—su adaptabilidad y su capacidad productiva en las más variadas situaciones climáticas—, sino también a las peculiares propiedades mecánicas del endospermo, que permiten la elaboración del pan, alimento bíblico que sigue siendo hoy la base de la dieta de una buena parte de la humanidad. El endospermo, que es el tejido mayoritario del grano, constituye un alimento relativamente completo. Contiene almidón y otros hidratos de carbono (60-80 por ciento), proteínas (8-15 por ciento), lípidos (1,5-2,0 por ciento), minerales (1,0-1,5 por ciento) y vitaminas (E, complejo B). La composición proteica del endospermo determina en gran medida la calidad de éste en relación con la elaboración del pan (calidad panadera) e incide de un modo importante en el valor nutritivo de este alimento. En el presente artículo nos proponemos examinar las relaciones entre la composición proteica y la calidad panadera y nutritiva del grano, así como resumir nuestros conocimientos sobre el control genético y la manipulación de dicha composición proteica.

La harina, obtenida por molienda del endospermo, se convierte en pan mediante el proceso de panificación, que comprende tres etapas: amasado, fermentación y cocción. El amasado consiste en el tratamiento mecánico de una mezcla de harina, levadura y agua hasta que la masa adquiere las propiedades viscoelásticas idóneas. La fermentación de la masa de pan es una fermentación

alcohólica, cuyo agente es la levadura de panadería (*Saccharomyces cerevisiae*) y cuyos productos principales son anhídrido carbónico y alcohol etílico. El sustrato de la fermentación está constituido por glucosa y maltosa, azúcares fermentables generados por degradación hidrolítica del almidón. La masa debe ser extensible, elástica y suficientemente impermeable a los gases, de tal manera que permita cambios de forma, la retención del CO₂ y el esponjamiento consiguiente durante la fermentación, así como el aumento del volumen del pan en la cocción. La cocción provoca una serie de modificaciones en la masa: (1) gelificación del almidón, lo cual aumenta su digestibilidad y la capacidad de retención de agua del pan cocido (hasta 45 por ciento en peso); (2) aumento del volumen de la masa esponjosa por expansión del CO₂ y volatilización del etanol (alveolado del pan); (3) coagulación de las proteínas, proceso que estabiliza la estructura y el volumen de la pieza de pan; (4) muerte de las levaduras e inactivación de los enzimas.

También se obtiene pan de otros cereales: el centeno o la cebada, por ejemplo; de hecho, éste fue el cereal preferido casi hasta el principio de la era cristiana, pero ya Plinio escribió que “el pan de cebada usado en épocas más primitivas había sido condenado por la experiencia...”. La capacidad de dar un pan con una alta relación de volumen a peso de harina, con una miga uniformemente alveolada y con unas excelentes propiedades organolépticas singulariza destacadamente al trigo panificable frente al resto de los cereales. Es esta capacidad de la harina de trigo la que depende en gran parte de su composición proteica.

Los estudios sobre las proteínas del endospermo de trigo tienen una larga tradición. Ya en 1745, Beccari descri-

bió lo que hoy conocemos como gluten, una masa viscoelástica que se obtiene tras eliminar por lavado el almidón de una masa formada por harina y agua. A lo largo del siglo XIX, Einhof (1805), Taddei (1819) y otros investigadores descubrieron que una fracción importante del gluten, a la que se denomina gliadina, era soluble en mezclas alcohol-agua. A principios del presente siglo, Osborne (1907) propuso una clasificación general de las proteínas basada principalmente en los estudios sobre el endospermo de trigo, que todavía es de uso general.

En la actualidad se consideran los siguientes grupos de proteínas en el endospermo de trigo: albúminas, solubles en agua y en soluciones salinas (0,5 M ClNa); globulinas, solubles en soluciones salinas, pero poco o nada solubles en agua; prolaminas (gliadinas en el caso del trigo), solubles en mezclas alcohol-agua y que requieren la presencia de un reductor de puentes disulfuro para una extracción cuantitativa; glutelinas (gluteninas en trigo), insolubles en los anteriores disolventes, pero solubles en ácidos o bases diluidos; residuo, proteínas no extraídas por ninguno de los disolventes mencionados, usados secuencial o individualmente.

Cada uno de estos grupos está integrado por cierto número de proteínas mayoritarias, muchas de las cuales se han purificado y caracterizado. Además de por sus propiedades de solubilidad, los diferentes grupos pueden distinguirse por otras características: composición en aminoácidos, tamaño y forma de los componentes, localización subcelular, función que desempeñan, etcétera. La fracción mayoritaria está representada por las gliadinas, que son proteínas con una función de reserva, ya que constituyen la principal fuente de nitrógeno para el desarrollo inicial

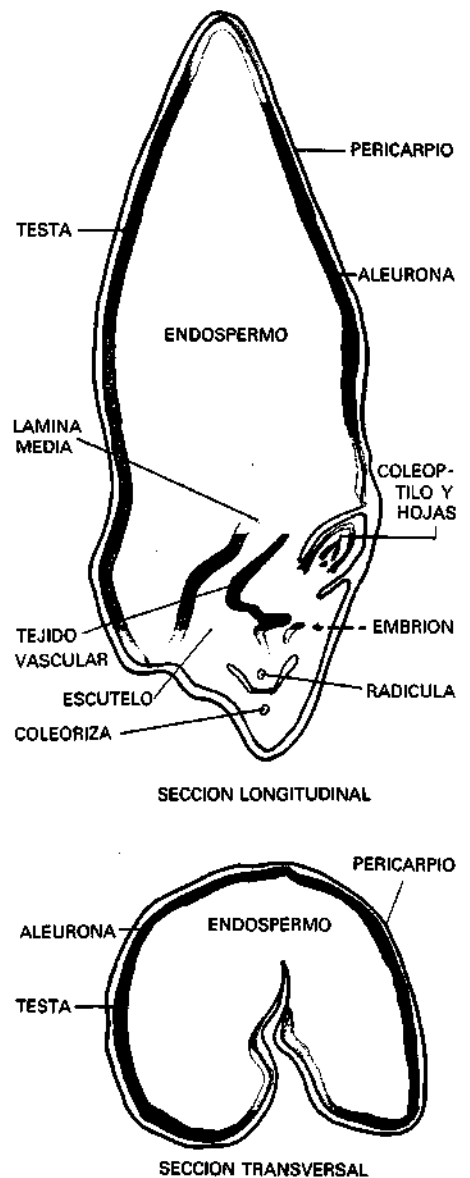
de la nueva planta durante la germinación del embrión. Las gliadinas se almacenan durante el desarrollo del endospermo en orgánulos especializados denominados cuerpos proteicos o proteosomas. En consonancia con su función de reserva, estas proteínas tienen un elevado contenido en el aminoácido amidado glutamina (por encima del 30 por ciento) y se incrementan preferencialmente cuando se aumenta la proteína del grano, forzando el abonado nitrogenado.

Usando métodos de separación de proteínas de alta resolución, como son los bidimensionales de electroenfoque x electroforesis, se ha puesto de manifiesto que la fracción de gliadinas incluye entre 40 y 50 proteínas. Estas forman familias más o menos relacionadas estructuralmente entre sí y dentro de las cuales existe un alto grado de homología en las secuencias de aminoácidos. Tradicionalmente se distinguen, de mayor a menor movilidad electroforética a pH ácido, las α -, β -, γ - y ω -gliadinas. Más recientemente, algunos autores incluyen en esta fracción prolaminas de alto peso molecular (95.000-136.000 dalton) que son solubles en mezclas de alcohol-agua, una vez desagregadas por reducción de puentes disulfuro [S-S-Proteína-S-S-Proteína-S-S + agente reductor X \rightarrow Proteína-S-X]. Estas prolaminas de alto peso molecular (*high molecular weight prolamins* = HMWP) se habían considerado antes gluteninas. La distinción entre gliadinas y gluteninas ha dado lugar a frecuentes confusiones debido a que parte de las gliadinas clásicas (α -, β -, γ -, ω -) forman, junto con las HMWP y las gluteninas, agregados de alto peso molecular (10^6 dalton), mediante puentes disulfuro intermoleculares, y no se extraen cuantitativamente por disolventes alcohólicos, si no se rompen antes estos puentes disulfuro.

La calidad del pan depende de la cantidad y calidad de proteína, que, a su vez, depende de la variedad genética y de la nutrición nitrogenada-azufrada de la planta. Con objeto de establecer las relaciones entre composición y calidad tecnológica se han realizado numerosos estudios en los que se han buscado correlaciones entre características del endospermo y características del pan elaborado a partir de él, principalmente la textura de la miga y el cociente entre volumen de pan y peso de harina. Cronológicamente, la primera observación empírica fue la distinción entre trigos o endospermos duros y blandos, y entre vítreos y opacos, lo que permitía hacer ciertas predicciones so-

bre su comportamiento en la molienda y en la panificación. En general existe una correlación entre dureza y vitrosidad, pero las dos propiedades no parecen tener una base común. Más clara está la relación de vitrosidad con alto contenido en proteína y de opacidad con bajo contenido en proteína. En los trigos blandos, las células se rompen fácilmente en la molienda y se liberan los gránulos de almidón; existe, además, poca adhesión entre los cuerpos proteicos, los gránulos de almidón y los restos de paredes celulares. En cambio, en los trigos duros estos elementos se cementan en una masa más compacta. Aunque caracteres tales como la dureza están notablemente influenciados por las condiciones ambientales y nutricionales, durante el desarrollo y maduración del grano, tienen también una base genética bien establecida.

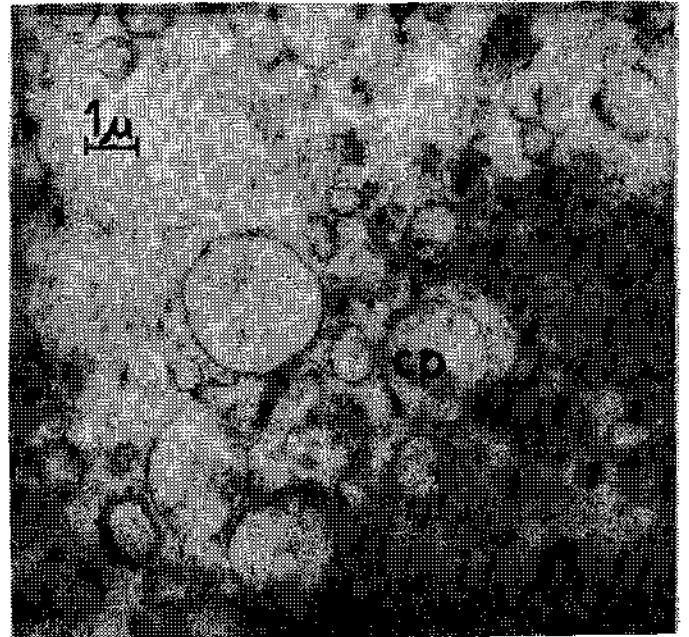
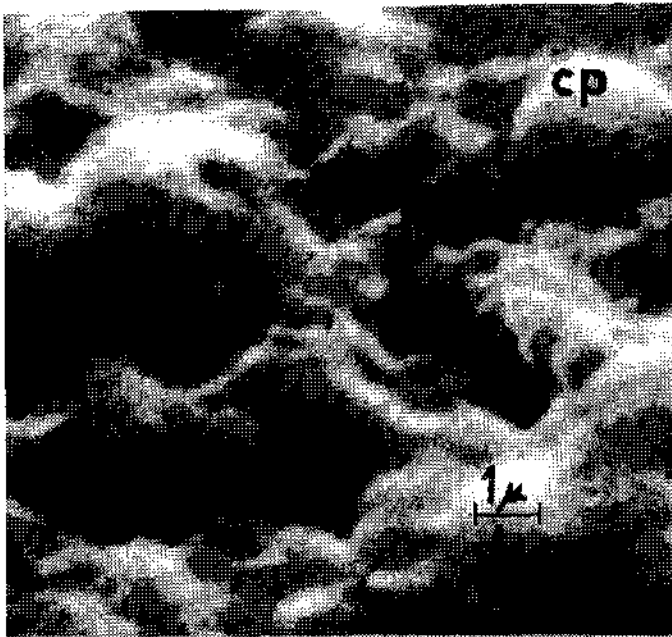
Una segunda correlación fue la observada entre cantidad de gluten y calidad del pan, lo que supuso relacionar por primera vez la composición proteica con la calidad panadera, ya que el gluten se compone principalmente de las fracciones de proteínas que hemos denominado gliadinas, gluteninas y residuo. Esta observación constituyó el punto de partida de estudios encaminados a esclarecer el papel de las proteínas en la panificación y las bases moleculares de las diferencias genéticas de calidad entre una variedad y otra. No se han encontrado correlaciones entre los contenidos de albúminas, globulinas y gliadinas, por un lado, y la calidad tecnológica, por otro. Sin embargo, varios investigadores han hallado correlaciones positivas entre parámetros de calidad y la cantidad de proteína residual que queda después de una extracción exhaustiva con diversos disolventes. Estos resultados sugieren que los agregados de glutenina y residuo, que incluyen las HMWP y parte de las gliadinas unidas por puentes disulfuro, son los principales responsables de las propiedades viscoelásticas de la masa y de la calidad panadera. Un paso importante en la búsqueda de los componentes proteicos individuales con una influencia decisiva en la calidad viene representado por el hallazgo de correlaciones entre diferencias intervarietales en los modelos electroforéticos de las HMWP y ciertos parámetros de calidad. En este caso, la asociación entre proteína individual y parámetro de calidad ha mostrado ser heredable en numerosos cruzamientos. Naturalmente, estas correlaciones no implican relaciones de causa a efecto, pero sí delimitan, junto con los conocimientos que se poseen sobre la bioquímica de las distintas



1. GRANO DE TRIGO, en sendos cortes, longitudinal y transversal. De fuera adentro, observamos, en primer lugar, el pericarpio o envoltura del fruto (embrión más endospermo). El endospermo es el tejido mayoritario del grano de los cereales; consta de una capa de aleurona y del endospermo amiláceo rico en gránulos de almidón y proteínas.

proteínas, los posibles modelos que expliquen, por un lado, la estructura de la masa de pan y, por otro lado, las diferencias genéticas de calidad.

Un tipo de prueba más directa viene representada por los ensayos de fraccionamiento y reconstitución, en los que harinas de diferente calidad se fraccionan en sus distintos componentes y a partir de ellos se reconstituyen harinas con componentes intercambiados. Los resultados de estos estudios son coherentes en general con los anteriormente descritos, asignando a las gluteninas, al residuo y, en menor grado, a las gliadinas un papel decisivo en la estructura de la masa. Este planteamiento experimental ha permitido matizar, además, las ideas actuales sobre el papel de



2. CUERPOS PROTEICOS, llamados también proteosomas, son orgánulos aproximadamente esféricos que contienen las proteínas de reserva del grano. Resulta fácil obtenerlos a partir de endospermo en desarrollo, por fracciona-

miento subcelular. En las micrografías se muestra una preparación de proteosomas (identificados por cp), parcialmente purificados: microscopía electrónica de barrido (a la izquierda) y electrónica de transmisión (a la derecha).

otros componentes tales como los lípidos y el almidón.

Las características esenciales del modelo más generalmente aceptado sobre la estructura de la masa son las siguientes: (1) Las proteínas del residuo, las gluteninas y las HMWP forman una malla tridimensional en la que las distintas subunidades proteicas se unen por puentes disulfuro (-S-S-) para dar largos polímeros lineales con cierto grado de ramificación. Los puentes -S-S-, que originalmente se forman "in vivo",

pueden redistribuirse durante el tratamiento mecánico del amasado. Además, pueden formarse "de novo" con posterioridad a la recolección por oxidación de grupos sulfhidrido (-SH), siendo precisamente el papel probable de ciertos mejorantes de la harina, tales como el bromato o el iodato, el de constituir agentes eficaces de dicha oxidación. (2) La red tridimensional se encuentra trabada o cementada por otras proteínas, almidón, lípidos polares y agua, entre las que se dan interacciones

hidrofóbicas, iónicas, puentes de hidrógeno, etcétera. Una estructura de estas características tendría las propiedades observadas en la masa: extensibilidad sin rotura, elasticidad para recuperar la forma cuando desaparecen las fuerzas deformantes y capacidad para retener gases y esponjarse.

Las proteínas del trigo son de baja calidad nutritiva. Estudios sobre nutrición humana, realizados a lo largo de la primera mitad de este siglo, han

PROTEINAS	% DE PROTEINA TOTAL	SOLUBILIDAD	AMINOACIDOS (MOLES/100 MOLES)			PESOS MOL. (KILODALTON)	EFECTO CALIDAD		SECUENCIA	OBSERVACIONES
			GLX	PRO	LYS		TECN.	NUT.		
ALBUMINAS	5-8	H ₂ O y 0,5M ClNa	10-11	7	5	12-24		++		
INHIBIDORES α-AMILASA			11-13	7-8	2,5-5	12,5-60			N-TERMINAL	
TIONINAS			3	4	10	5			COMPLETA	POTENCIALMENTE TOXICA
GLOBULINAS	8-10	0,5M ClNa	11-15	4-5	4-7	10-70		++		
PROTEINAS CM			12-15	10-14	2-3	11-15				SOL. EN CLOROFORMO/METANOL
GLIADINAS	50-60	ALCOHOL-H ₂ O	20-50	15-25	0,9			+		
LMWG			23-27	9-11	0,3	16-18				SOL. EN CLOROFORMO/METANOL
α-, β-, γ-			35-40	15-20	0,5	32-44			N-TERMINAL	α ENFERMEDAD CELIACA
ω-			40-50	20-30	0,3	44-72			N-TERMINAL	-S-S- INTRAMOLECULARES NO TIENE -S-S-
GLUTENINAS	10-20	ACIDOS O BASES DIL.	10-15	7-10	2-4			+++	+	-S-S- INTERMOLECULARES
HMWP			30-40	11-14	1,2	95-138		+++		N-TERMINAL
RESIDUO	3-6	INSOLUBLE	17	6	6		+++	+		

3. GRUPOS DE PROTEINAS del endospermo de trigo, según la clasificación de Osborne, basada principalmente en criterios de solubilidad. Se consignan también algunos subgrupos de proteínas dentro de estos grandes grupos. En algunos casos, la asignación de los subgrupos no está clara del todo; por ejemplo: las proteínas CM son al menos parcialmente solubles en agua y las prolaminas de alto peso molecular (HMWP, del inglés high molecular weight proteins) son solubles en alcohol-agua, previa reducción de sus puentes disulfuro -S-S-. Las distintas proteínas difieren en su composición en aminoácidos,

presentándose en la tabla sólo los más significativos desde el punto de vista de la clasificación: glutamina + glutámico (GLX) y prolina (PRO), que son los aminoácidos mayoritarios típicos de las proteínas de reserva, y la lisina (LYS), aminoácido esencial limitante. Se han purificado numerosos componentes de los subgrupos y se han determinado sus pesos moleculares y sus secuencias de aminoácidos (totales o parciales). Se consigna también en la tabla la incidencia, en términos semicuantitativos, de los distintos grupos de proteínas sobre la calidad panadera (Tecn.) y nutritiva (Nut.) de la harina.

puesto de manifiesto que el requerimiento dietético de ciertos aminoácidos, denominados esenciales, se debe a la incapacidad del organismo humano para sintetizarlos. Varios aminoácidos esenciales están en muy baja proporción en la harina de trigo, siendo la lisina el aminoácido esencial limitante. Por esta razón, el valor biológico de dicha proteína, es decir, el porcentaje de proteína absorbida que es retenida por el organismo, es muy bajo (52 por ciento) si se compara con el de la proteína de huevo (94 por ciento) o el de la proteína de la leche de vaca (90 por ciento). La composición en aminoácidos global de la proteína de trigo es el resultado de la composición de las distintas fracciones y, en último término, de la composición de las proteínas individuales integrantes del conjunto. Concretamente, el bajo contenido global de lisina se debe a que las gliadinas, proteínas de reserva del grano que suponen un 60 por ciento de la proteína total, prácticamente carecen de este aminoácido esencial (por debajo del 1 por ciento), aunque las otras fracciones proteicas, albúminas, globulinas y gluteninas, tienen contenidos más elevados (3-8 por ciento).

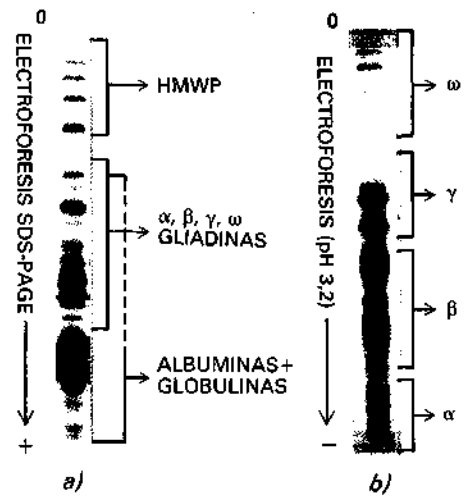
Otro aspecto de la calidad nutritiva que debe considerarse es el de la posible presencia en el endospermo de factores antinutritivos. No parece que estos factores sean tan importantes en el caso de los cereales como en el de otros granos, tales como los de las leguminosas, pero se han descrito algunos efectos patológicos asociados a ciertas proteínas de trigo. El mejor estudiado es el conocido como enfermedad celíaca, que consiste en la interferencia con la absorción intestinal de nutrientes producida por componentes de las α -gliadinas en personas sensibles. La sensibilidad es hereditaria, determinada poligénicamente, y da lugar a síntomas adicionales de carácter inmunológico, así como a deficiencias enzimáticas. También se ha descrito recientemente que las tioninas, unas proteínas de pequeño tamaño presentes en el endospermo, tienen efectos citopáticos sobre células de mamíferos en cultivo, incluidas células humanas (HeLa), y bloquean además la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. No tenemos datos de que las tioninas resulten tóxicas por vía oral y es probable que las degraden rápidamente proteasas del tracto intestinal, aunque no se ha descartado todavía que lleguen a afectar a individuos sensibles. Debe mencionarse también que existen en el endospermo inhibidores de enzimas digestivos, tales como proteasas y amilasas, pero no parece

que afecten adversamente a la calidad nutritiva de la harina.

En lo que antecede hemos puesto de manifiesto la estrecha relación existente entre la composición proteica del endospermo de trigo y su calidad tecnológica y nutritiva. De aquí el evidente interés que tiene el estudio del control genético de las proteínas mayoritarias de dicho tejido y su manipulación genética con fines prácticos.

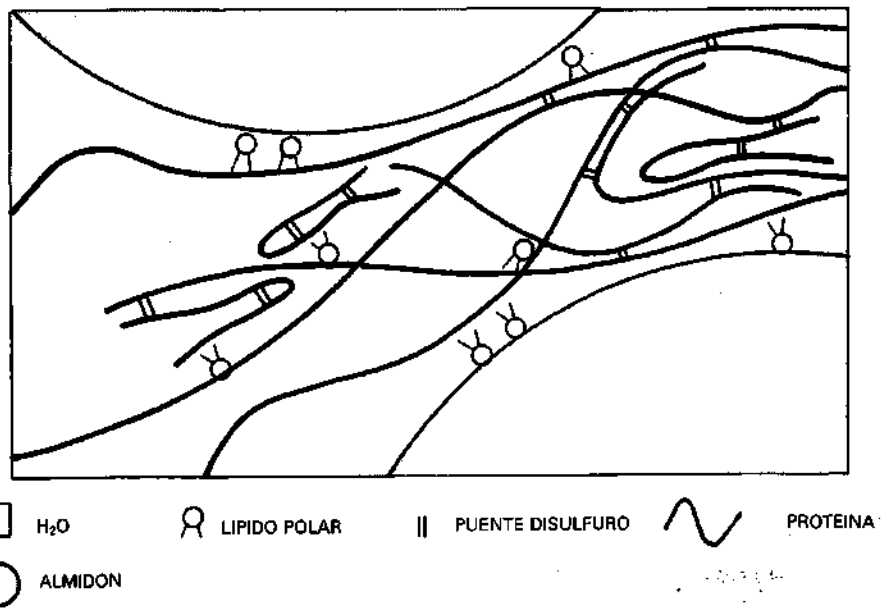
El trigo panificable por excelencia es la especie alohexaploide *Triticum aestivum* L. var. *aestivum* (genomas AABBDD), que representa la mayor parte del trigo cultivado, siendo mucho menor la producción del alotetraploide *T. turgidum* L. var. *durum* (genomas AABB), que se usa para elaborar pastas alimenticias [véase "Los recursos genéticos del trigo silvestre", por M. Feldman y E. R. Sears; INVESTIGACIÓN Y CIENCIA marzo, 1981, 50-61]. Los términos alohexaploide y alotetraploide designan los poliploides dotados de seis y cuatro juegos de cromosomas, respectivamente; en la meiosis, no forman multivalentes, sino bivalentes. El término *homeología* (homología ancestral) se utiliza para designar las relaciones de homología entre genomas, cromosomas o genes con un origen común.

La naturaleza alohexaploide del trigo panificable implica que la mayor parte de la información genética está triplicada en esta especie, existiendo tres *loci* o sitios, localizados en tres pares de cromosomas homeólogos, que codifican

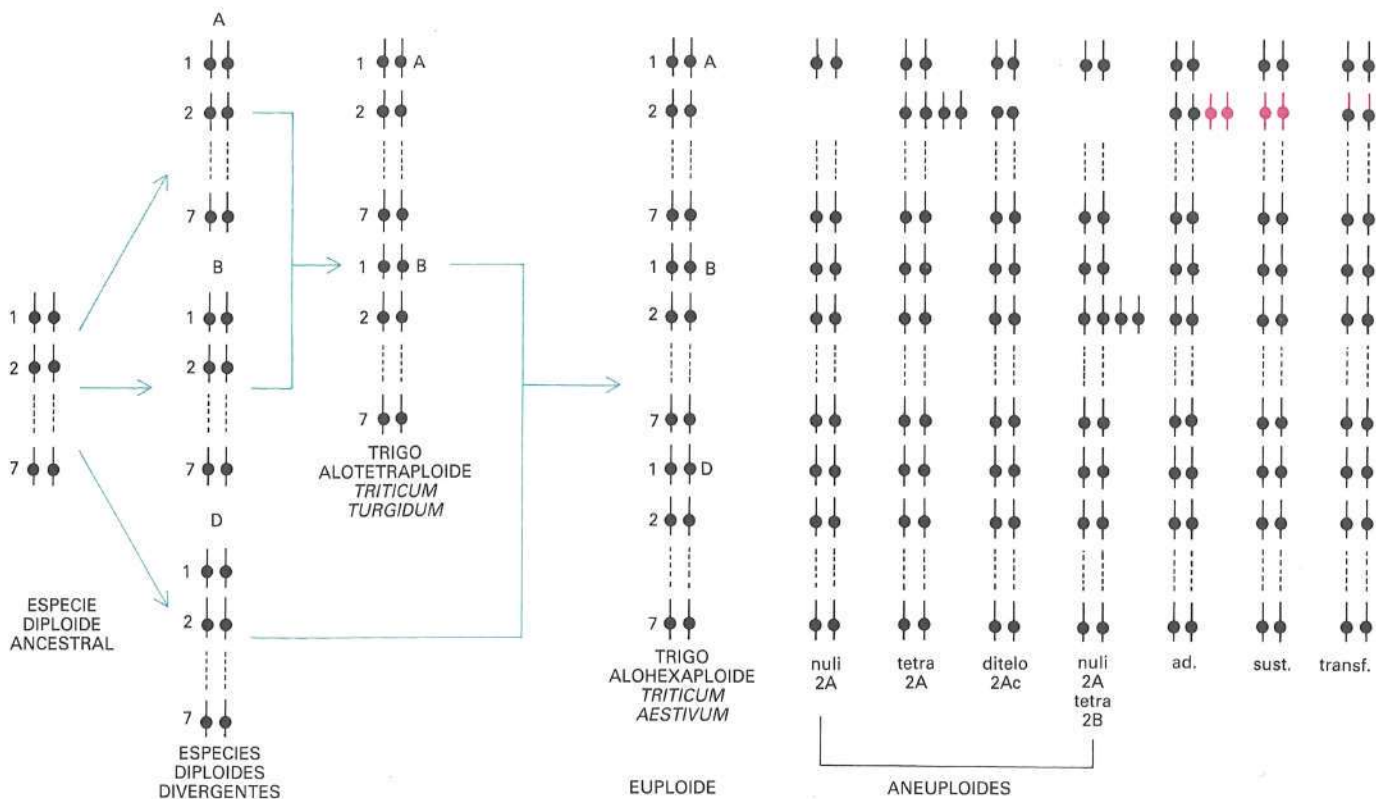


4. FRACCIONAMIENTO por electroforesis de las proteínas de endospermo de trigo. A la izquierda, el detergente dodecilsulfato sódico (SDS) extrae la mayor parte de la proteína del endospermo, que puede ser fraccionada por electroforesis en gels de poliacrilamida en presencia del detergente (SDS-PAGE); las proteínas migran tanto más rápidamente cuanto más pequeñas son. Se observa, a la derecha, que el alcohol etílico al 70 por ciento en agua extrae preferentemente las gliadinas, que pueden ser fraccionadas por electroforesis en gel de almidón (pH 3,2); las gliadinas migran según su carga positiva a dicho pH; se designan α -, β -, γ -, ω -, según su movilidad; cada banda incluye más de una proteína, según se pone de manifiesto por métodos bidimensionales de fraccionamiento.

para cada carácter cuyo control en una especie diploide correspondería a un solo *locus*. (Y una especie diploide es aquella que tiene dos juegos de cromosomas.) El alohexaploide se ha originado por la integración de tres genomas diploides, donados por tres especies diploides progenitoras procedentes de



5. ESTRUCTURA MOLECULAR de la masa de pan. Consiste en una malla tridimensional de proteínas unidas por puentes -S-S-, formada por parte de las α -, β -, γ - y ω -gliadinas, las HMWP y las proteínas del residuo, que incluye los gránulos de almidón (más o menos intactos durante la fermentación y gelificados en la cocción), los lípidos polares y otras proteínas como elementos de relleno y trabado. Los lípidos polares desempeñan un papel importante en las propiedades viscoelásticas de la masa: sirven de puente entre dominios hidrofílicos del almidón y de algunas proteínas y dominios hidrofóbicos de las proteínas que forman la malla. (Lípidos polares son los dotados de un extremo hidrofílico y otro hidrofóbico.)



6. CONSTITUCION CROMOSOMICA de los trigos cultivados. El trigo tetraploide *Triticum turgidum* L. se originó de dos especies diploides, con siete pares de cromosomas cada una, procedentes a su vez de una especie ancestral común; una forma silvestre del trigo diploide *T. monococcum* L. aportó el genoma A y un *Aegilops* diploide no identificado aportó el B. Se usa *T. turgidum* var. *durum* para elaborar pastas y *T. monococcum* ya no se cultiva. El

trigo hexaploide, *T. aestivum* L., usado en panadería, se originó del trigo tetraploide y de la especie diploide *Aegilops squarrosa* (syn. *T. tauschii*), que aportó el genoma D. A partir del cultivar hexaploide "Chinese Spring" se han obtenido líneas en las que la constitución cromosómica normal (euploide) está alterada con respecto a un cromosoma o brazo cromosómico (aneuploides) por adición o sustitución de cromosomas de especies o géneros distintos.

una especie ancestral común. Así, los 21 pares de cromosomas del trigo panificable forman tres genomas homeólogos (AA, BB, DD), cada uno con 7 pares de cromosomas (1A-7A, 1B-7B, 1D-7D). Se dan varias situaciones posibles tanto para los genes estructurales que codifican para las proteínas del endospermo como para los genes que modifican o regulan su expresión. No todos los sistemas genéticos de un alohexaploide poseen *loci* triplicados, ya que se han observado casos de *loci* sencillo y de *loci* duplicados. Los productos correspondientes a *loci* duplicados o triplicados pueden ser idénticos o, al menos, operativamente indistinguibles por los métodos analíticos disponibles, o, por el contrario, los productos homeogénicos pueden ser individualmente identificables y cuantificables. Análogamente, los genes reguladores o modificadores duplicados o triplicados pueden tener una acción equivalente, o, por el contrario, cada uno de los homeógenos reguladores ha podido diversificarse, ejerciendo una acción diferente o incluso afectando a genes estructurales distintos.

Además de la complejidad genética que se deriva de la naturaleza alohexaploide del trigo, hay que señalar que el caso del endospermo se complica aún

más debido a la naturaleza triploide de este tejido (AAA, BBB, DDD). De las tres copias de cada cromosoma distinto presentes en una célula de endospermo, dos son de aportación materna y uno de procedencia paterna, por lo que cruzamientos recíprocos entre parentales con alelos diferentes en un *locus* dado (a^1 y a^2) difieren en su constitución genética ($a^1a^1a^2$ y $a^2a^2a^1$). Esta considerable redundancia genética hace que a menudo no sea posible realizar un análisis genético convencional basado en la segregación de variantes alélicas o de grupos de ligamiento.

Sin embargo, esta dificultad puede obviarse recurriendo a otro tipo de análisis genético, basado en el uso de aneuploides, que es especialmente asequible en esta especie. E. R. Sears, de la Universidad de Missouri, ha desarrollado una extensa gama de líneas de trigo que se denominan aneuploides, en las que faltan cromosomas, brazos o segmentos cromosómicos, así como líneas en las que la dotación cromosómica normal (euploide) del trigo se ha aumentado específicamente para un cromosoma dado o sustituido por cromosomas, brazos o segmentos cromosómicos de especies distintas. El disponer de series completas de los distintos tipos de líneas permite explorar sistemáticamente

todos los genomas, anulando (o reforzando) bloques de información genética (cromosomas, brazos o segmentos cromosómicos) y correlacionando dichas alteraciones genéticas con la falta de expresión (o el reforzamiento) de caracteres observables.

Describiremos brevemente los distintos tipos de líneas usados en este modo de análisis genético. Se llaman líneas monosómicas y nulisómicas las que carecen respectivamente de uno o de los dos cromosomas de uno de los 21 pares de cromosomas que constituyen el euploide; monotelosómicas o ditelosómicas, si carecen respectivamente de uno o de dos brazos cromosómicos homólogos; trisómicas o tetrasómicas, cuando poseen, respectivamente, una o dos dosis extra de un cromosoma dado. Las líneas monosómicas, monotelosómicas y trisómicas segregan y las tetrasómicas son inestables cuando se autofecundan, por lo que es preciso realizar recuentos cromosómicos para identificar en la descendencia qué plantas mantienen las características descritas. La mayoría de las plantas nulisómicas tienen una fertilidad reducida y escaso vigor. De fertilidad y vigor normales son las líneas denominadas nuli-tetrasómicas compensadas, que

son nulisómicas para un cromosoma y tetrasómicas para uno de sus homeólogos (por ejemplo, nuli 2A-tetra 2B, nuli 2A-tetra 2D; nuli 4D-tetra 4A, nuli 4D-tetra 4B).

Se han obtenido además otros tipos de stocks genéticos de gran utilidad en el presente contexto: las líneas de adición, sustitución y transferencia. En las primeras se han añadido uno o dos cromosomas ajenos; en las segundas se ha sustituido un par de cromosomas por un par homeólogo, de otra especie o género, o por un par homólogo de otra variedad de la misma especie y, finalmente, las líneas de transferencia llevan un segmento cromosómico homeólogo de una especie distinta como sustituyente en un par de cromosomas.

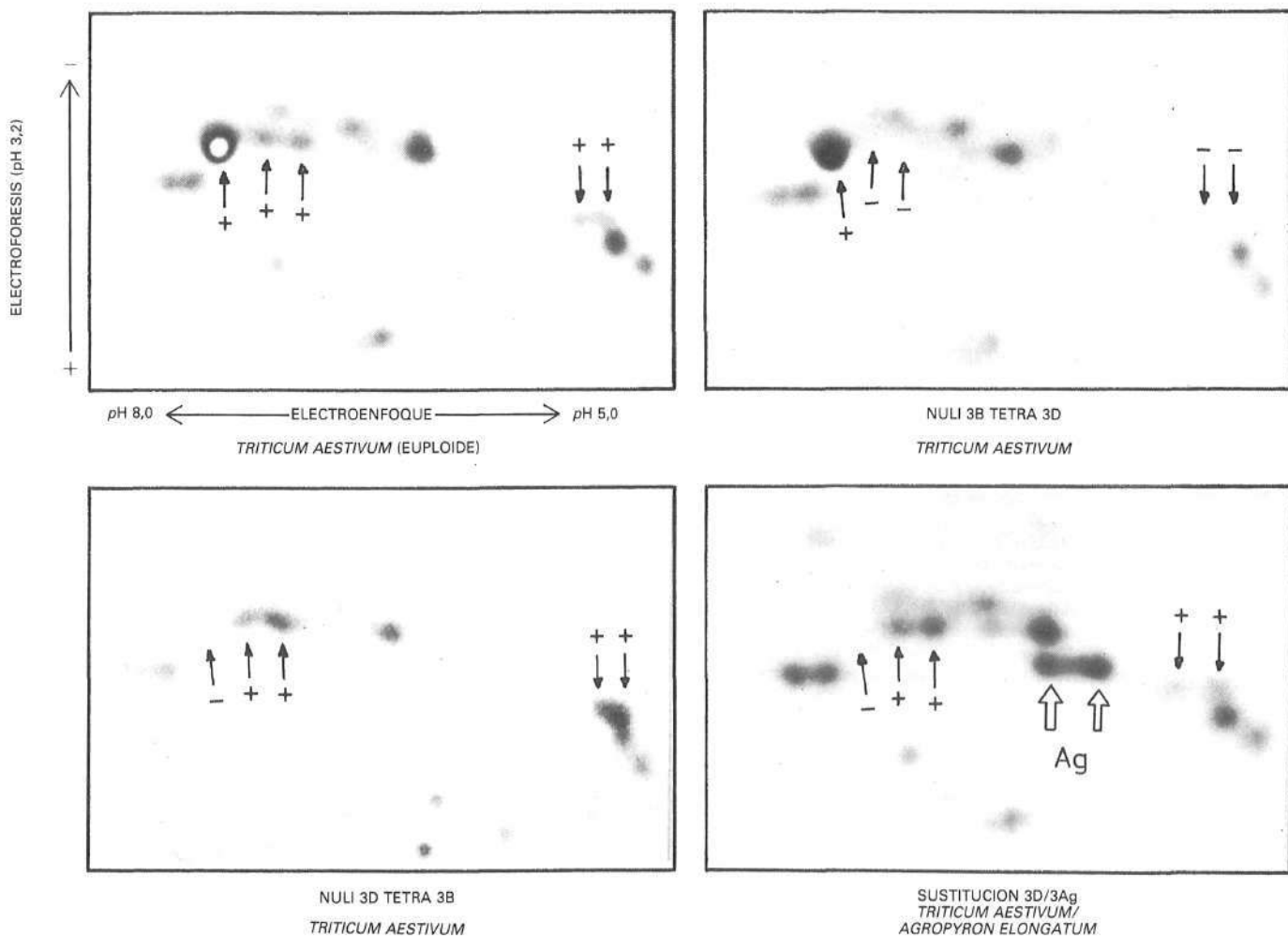
Se aplican tres criterios para asignar los genes que codifican para las distintas proteínas del endospermo a segmentos cromosómicos concretos: (1) concomitancia de la desaparición de la proteína con la ausencia de un cromosoma o un segmento cromosómico, (2) variación cuantitativa del nivel de ex-

presión en función de la variación de la dosis cromosómica o del número de copias de un segmento que incluya el gen estructural; (3) aparición de la proteína en líneas en las que se ha añadido o sustituido un cromosoma, o se ha transferido un segmento cromosómico. El análisis de series completas de líneas nulisómicas, nultetrasómicas y ditelosómicas aporta las pruebas del primer tipo. Los efectos de dosis génica pueden ser investigados en las series monosómicas, trisómicas, tetrasómicas y nuli-tetrasómicas. Esta última serie es particularmente útil, no sólo porque aporta datos de los dos primeros tipos, sino porque sus fenotipos son generalmente vigorosos y fértiles, siendo fácil su mantenimiento y propagación. El tercer tipo de pruebas se obtiene analizando sustituciones homólogas intraespecíficas, sustituciones homeólogas interespecíficas e intergenéricas, adiciones monosómicas y disómicas y líneas de transferencia. Este tipo de corroboración resulta particularmente útil en estudios con proteínas, porque permite

distinguir entre genes estructurales y genes modificadores o reguladores.

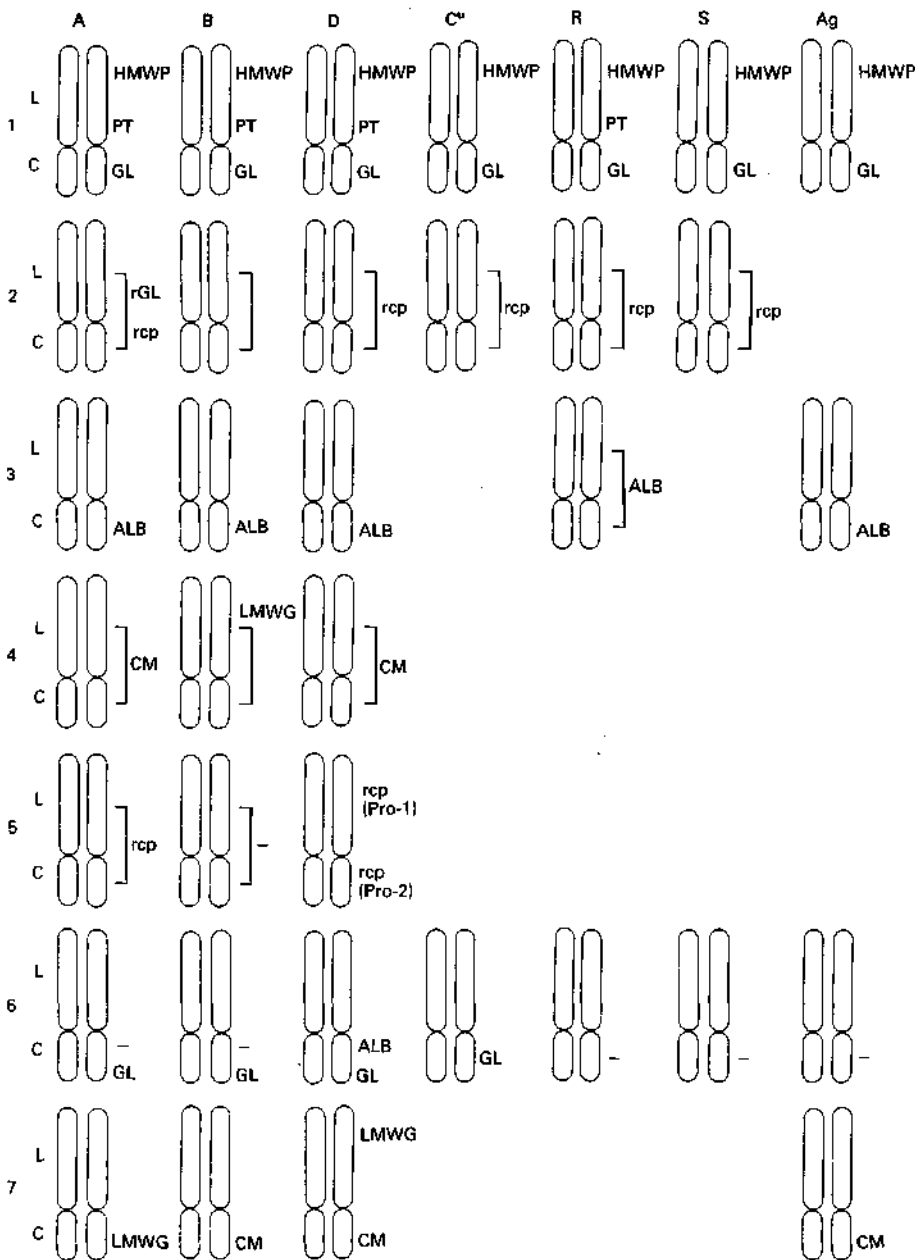
El método de análisis genético que acabamos de describir ha permitido asignar a brazos cromosómicos concretos la mayoría de los genes estructurales correspondientes a proteínas abundantes y específicas del endospermo, así como localizar los genes homeólogos correspondientes en especies silvestres y cultivadas más o menos distantes del trigo, como son *Aegilops umbellata* (= *Triticum umbellata*), centeno (*Secale cereale*), cebada (*Hordeum vulgare*) y *Agropyron elongatum*.

Los genes estructurales que codifican para las α -, β -, γ - y ω -gliadinas, principales proteínas de reserva del grano, se localizan en los brazos cortos de los cromosomas de los grupos homeólogos 1 y 6 de los genomas (ABD) del trigo. Tanto los datos de la bioquímica (composición y secuencia de aminoácidos) como los aportados por la segregación en cruzamientos apropiados indican que dichos genes forman al me-



7. USO DE ANEUPLOIDES para localizar los genes que determinan distintas proteínas. Las proteínas se extraen del endospermo y se fraccionan por un método bidimensional de electroenfoque (primera dimensión) \times electroforesis (segunda dimensión). El electroenfoque separa las proteínas según su punto isoelectrico y la electroforesis según su carga al pH elegido; cada mancha del mapa bidimensional representa una sola proteína cuya presencia (+) o ausen-

cia (-) en distintas líneas aneuploides indica la localización cromosómica del gen estructural que la codifica. En el ejemplo elegido se determina la localización de los genes que codifican para ciertas albúminas en cromosomas del grupo 3 y se demuestra la expresión de genes que codifican para albúminas homeólogas de *Agropyron elongatum* (Ag) en una línea de sustitución 3D/3Ag. (Estas fotografías se han tomado de la tesis de M. Rodríguez-Loperena.)



8. LOCALIZACIÓN CROMOSÓMICA DE LOS GENES que codifican, modifican o regulan las proteínas mayoritarias del endospermo de trigo y de especies afines. Para una mejor comprensión, los símbolos empleados en el mapa genético de arriba no son los correspondientes a los genes, sino a las proteínas pertinentes. En casi todos los casos, el símbolo representa varias proteínas estrechamente relacionadas y, por tanto, varios genes: prolaminas de alto peso molecular (HMWP); tioninas (también denominadas purotioninas en el trigo, PT); α -, β -, γ - ω -gliadinas (GL); albúminas (ALB); proteínas CM (CM); gliadinas de bajo peso molecular (LMWG). Los genes con efecto regulador o modificador del contenido proteico total (rcp) y de las gliadinas (rGL) también se ilustran de forma no convencional. No se han representado otros muchos genes correspondientes a caracteres bioquímicos, morfológicos o fisiológicos cuya localización cromosómica se conoce en la actualidad. Los genomas A, B y D pertenecen al trigo hexaploide *T. aestivum* y la numeración cromosómica empleada (1-7; brazo largo, L, o brazo corto, C) es la correspondiente a esta especie. En las especies *Aegilops umbellulata* (C*), centeno (R), cebada (S) y *Agropyron elongatum* (Ag) se han representado sólo los cromosomas involucrados en el control genético de las proteínas o efectos investigados en cada una de ellas; las numeraciones de los cromosomas son las que les corresponderían por su homeología con los de trigo, no las asignadas originalmente para cada especie.

nos 11 agrupaciones en tándem. El hecho de que una especie próxima, como *Aegilops umbellulata*, tenga también los genes que codifican para estas gliadinas en cromosomas correspondientes a los grupos de homeología 1 y 6, mientras que especies más distantes, como centeno, cebada o agropyron, los tengan sólo en el cromosoma correspondiente al grupo 1, sugiere que los genes localizados en el grupo 6 se originaron

por una translocación de un segmento del cromosoma 1 al cromosoma 6, ocurrida en un progenitor de las especies *Aegilops-Triticum*, con posterioridad a las ramificaciones que conducen a *Secale*, *Hordeum* y *Agropyron*. (Se llama translocación al cambio de posición de un segmento de un cromosoma a otra parte del mismo o de diferente cromosoma.) Además, todos los cromosomas del grupo 1 examinados tienen genes

que determinan las proteínas denominadas HMWP, localizados en sus brazos largos. Ya hemos indicado que esta fracción, que comprende 3-5 componentes y forma parte de los cuerpos proteicos, presenta cierta variabilidad genética intraespecífica que parece estar asociada a las diferencias intervarietales en calidad panadera. La similitud estructural de los cromosomas del grupo 1 en todas las especies estudiadas se pone de manifiesto por la distribución de genes que determinan las tioninas y que están localizados en los brazos largos de los cromosomas de este grupo.

En algunos casos se ha podido alcanzar mayor detalle en el mapa genético mediante el análisis de colecciones de líneas de transferencia con cromosomas recombinantes *Agropyron-trigo*, en los que un segmento terminal de un cromosoma de *Agropyron* reemplaza a segmentos homeólogos de un cromosoma de trigo. Por métodos citogenéticos (frecuencia de apareamiento meiótico del cromosoma recombinante con el cromosoma del trigo intacto) es posible ordenar las líneas de transferencia según el tamaño del segmento cromosómico transferido; por análisis bioquímico, se averigua si los genes que codifican para un cierto tipo de proteína están o no localizados en segmentos homeólogos de los cromosomas de trigo y *Agropyron* (mutua exclusión de las variantes proteicas correspondientes a cada especie indica homeología); a partir de ambos, obtendremos el orden de localización de distintos genes en el brazo cromosómico investigado. De este modo se ha demostrado que los genes que codifican para albúminas, localizados en los brazos cortos de los cromosomas del grupo 3, ocupan posiciones homeólogas, próximas al centrómero, en los cromosomas 3D y 3Ag. Del mismo modo se han podido asignar posiciones homeólogas en los brazos cortos de los cromosomas 7D y 7Ag para los genes que rigen determinadas globulinas hidrófobas, denominadas proteínas CM.

En general, tanto la localización de genes que codifican para proteínas mayoritarias del endospermo como la de genes que determinan otras proteínas no aludidas en este artículo (enzimas, por ejemplo) indican una considerable conservación de los mapas genéticos en los distintos genomas, a pesar de su evolución divergente, aunque también ponen de manifiesto algunos cambios estructurales en los cromosomas. Por ejemplo, la localización de genes para proteínas CM (cromosoma 4A; brazos cortos de 7B y 7D) y para

gliadinas de bajo peso molecular LMWG (brazo corto de 7A; 4B; brazo largo de 7D) sugiere la existencia de translocaciones recíprocas entre cromosomas de los grupos 4 y 7, que han ocurrido en las especies parentales de *T. aestivum* o durante la evolución posterior al origen de dicha especie.

El aumento del contenido en proteínas del grano y de la proporción de aminoácidos esenciales —especialmente lisina— en la proteína, manejando los factores genéticos y ambientales, son objetivos agronómicos de indudable interés, pero de difícil consecución. Existe una correlación negativa entre rendimiento en grano por unidad de superficie y contenido porcentual en proteínas del mismo, aunque un aumento en el rendimiento de la cosecha suele conducir a un aumento de la producción de proteína por unidad de superficie. Existe, además, otra correlación negativa entre proteína del grano y proporción de lisina en la proteína, pero de nuevo un incremento en el contenido proteico del grano lleva consigo un incremento en el contenido en lisina referido al peso de grano, si bien este incremento es proporcionalmente menor.

Son numerosos los investigadores que no han tenido en cuenta estas correlaciones, por lo que la literatura científica relativa al control genético de la cantidad y calidad de proteína del grano es confusa. Sólo disponemos de pruebas sólidas para los efectos genéticos asociados a cromosomas de los grupos 2 y 5. Se ha observado que cuando un par de cromosomas 2R de centeno sustituye a cualquiera de los pares de cromosomas 2 de trigo (2A, 2B, 2D), el contenido en proteínas del grano aumenta considerablemente. Esta observación dio lugar a un estudio posterior realizado en el Plant Breeding Institute (Cambridge, Inglaterra) en el que se investigaron los efectos, sobre el contenido en proteínas de los cromosomas del grupo 2 de las especies (*Aegilops umbellulata* (C^u), *Ae. comosa* (M) y *S. montanum* (R^m)) en comparación con cromosomas del grupo 2 de trigo (A, B, D). Analizando líneas de sustitución, se ordenaron los cromosomas según su capacidad para promover la producción de proteína en el grano: 2A > 2M > 2B > 2C^u > 2D > 2R^m. En confirmación de estos resultados, la sustitución 2M/2D en dos cultivares de trigo comerciales dio lugar a incrementos en el contenido en proteínas del grano.

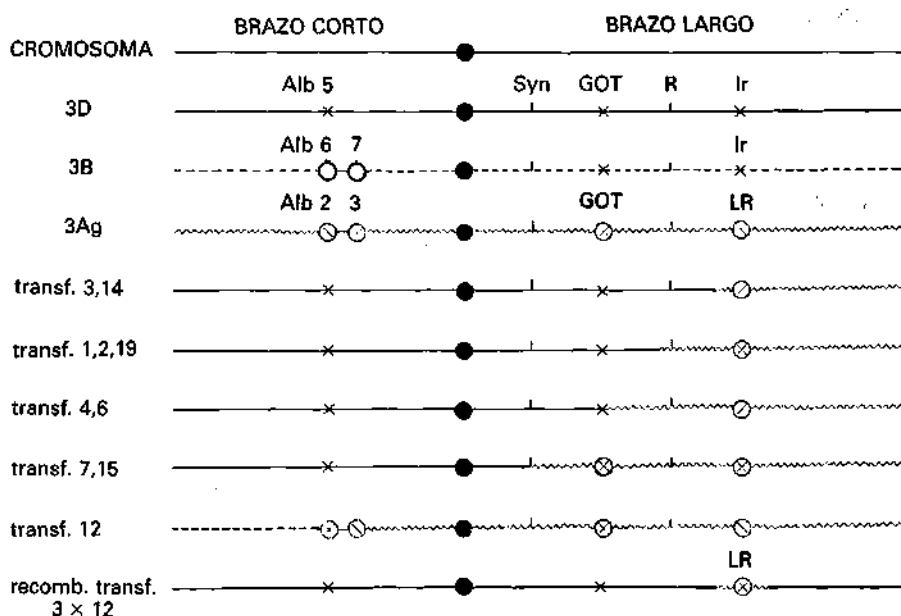
El cultivar Atlas 66 tiene un contenido en proteínas excepcionalmente elevado y por esta razón se ha puesto gran empeño en analizar la base genética de

dicho carácter y en transferirlo a cultivares con buenas propiedades agronómicas. Analizando líneas de sustitución intraespecíficas de Atlas 66 sobre el cultivar Chinese Spring, Rosalind Morris y sus asociados, de la Universidad de Nebraska, localizaron los genes responsables del alto contenido en proteína principalmente en el cromosoma 5D; un efecto menor ejercían genes localizados en el cromosoma 5A. Más tarde se identificaron, por análisis genético convencional, dos genes, *Pro1* y *Pro2*, localizados respectivamente en los brazos largo y corto del cromosoma 5D, responsables del efecto positivo sobre el contenido en proteína.

Los efectos descritos son generales; afectan, al parecer, a la totalidad de la proteína del grano. La alteración de la composición proteica de éste implica alterar las proporciones relativas de las distintas proteínas o de grupos de proteínas concretos. Por ejemplo, un bloqueo parcial de la síntesis de gliadinas, que prácticamente carecen de lisina, y un incremento de las otras fracciones proteicas daría lugar a un incremento en el contenido del grano en el aminoácido esencial limitante. Poco ha aportado todavía el análisis de aneuploides a la localización de efectos modificadores o reguladores específicos. En todas las proteínas investigadas se ha observado una variación lineal de la cantidad de proteína en función de la dosis génica. Para algunas proteínas codificadas por

sistemas genéticos no triplicados (duplicados o sencillos) se ha demostrado que la respuesta a la dosis génica (cantidad de proteína por número de genes) es controlada por genes localizados en cromosomas distintos de aquellos donde se localizan los genes estructurales para dichas proteínas. También se ha encontrado que genes localizados en el cromosoma 2A pueden bloquear la expresión de dos genes localizados en el cromosoma 6D, que determinan gliadinas, en líneas tetrasómicas para el cromosoma 2A. El conocimiento de estos efectos específicos es todavía demasiado rudimentario para que pueda dar lugar a resultados prácticos.

Puede estimarse que las proteínas correspondientes a los genes estructurales que ya han sido asignados a sus correspondientes cromosomas representan más del 80 por ciento del contenido proteico del endospermo. Se sabe que muchos de estos genes forman grupos de repeticiones en tándem, por lo que no debe considerarse inviable la alteración de la composición proteica del endospermo mediante inserción o deleciones de segmentos cromosómicos, utilizando las técnicas que algunos han denominado como "ingeniería cromosómica". Aunque el trigo panificable es un hexaploide, se comporta como un diploide, es decir, los cromosomas homeólogos ni se aparean en la meiosis ni se recombinan normalmente, a pesar de su similitud estructural derivada de



9. TRANSFERENCIA GENÉTICA EXTRAESPECÍFICA desde la especie silvestre *Agropyron elongatum* hasta el trigo. El procedimiento seguido para introducir un segmento interno del cromosoma 3Ag (*A. elongatum*), portador de un gen determinado, en el cromosoma homeólogo 3D (*T. aestivum*) comprende las siguientes etapas: en primer lugar, obtención de la línea de sustitución 3D/3Ag; en segundo lugar, formación de recombinantes 3Ag-3D por cruzamiento de la línea de sustitución con el trigo en condiciones en las que se bloquea la acción del gen diploidizante (Ph), lo que promueve el apareamiento y recombinación entre cromosomas homeólogos; en tercer lugar, caracterización de los recombinantes mediante el estudio del apareamiento meiótico con cromosomas 3Ag y 3D intactos y el análisis de marcadores bioquímicos de dichos cromosomas; finalmente, nuevo ciclo de recombinación entre cromosomas recombinantes apropiados (en el ejemplo representado aquí: recombinación entre las líneas de transferencia 3 y 12).

¡ajá!



Inspiración ¡ajá! Martin Gardner

Martin Gardner, el autor de "Juegos matemáticos", la popular sección de "Investigación y Ciencia", nos presenta una obra inédita hasta ahora en lengua castellana que ha alcanzado un singular éxito en otros países, como Estados Unidos y Japón.

¿Qué sucede en la mente de una persona cuando ésta tiene súbitamente una idea luminosa, una inspiración repentina, que le permite resolver con sencillez un problema aparentemente difícil? Estos "chispazos" mentales se llaman ahora, en psicología, "reacciones ¡ajá!" y no tienen una relación directa con la inteligencia general del individuo ni con su rapidez de pensamiento. Hay, sin embargo, una estrecha conexión entre los destellos ¡ajá! y la creatividad en la ciencia, el comercio y la actividad cotidiana.

Este libro presenta una selección de problemas y rompecabezas que parecen —y son, en realidad— de difícil solución a través de los métodos tradicionales. Pero pueden resolverse en un instante cuando la reacción ¡ajá! se produce. Notas complementarias indican cómo esos problemas conducen a aspectos significativos de la matemática moderna. Conseguir que el lector, lúdicamente, ejercite y perfeccione su capacidad en el arte de resolver problemas es, en esta obra, objetivo central.

RESUMEN DEL ÍNDICE

- I. ¡Ajá! combinatorio: rompecabezas de ordenación
 - II. ¡Ajá! en geometría: problemas sobre formas y figuras
 - III. ¡Ajá! numérico: rompecabezas aritméticos
 - IV. ¡Ajá! en lógica: rompecabezas de razonamiento
 - V. ¡Ajá! verbal: rompecabezas y enigmas sobre letras, palabras y frases
- Bibliografía escogida*
Soluciones a los problemas

Un volumen de 180 páginas. Edición profusamente ilustrada.
Editorial Labor, 1981

Puede usted remitir este cupón, o sus datos, a Editorial Labor, S.A., Apartado F.D. 94, Barcelona.



Sirvanse remitirme un ejemplar de ¡Ajá!, cuyo importe libre de gastos, 750 ptas. (precio para España), abonaré a su recepción.

Nombre y apellidos

Domicilio N.º Piso

Población Dto. postal

Provincia

Firma

su origen ancestral común. Esta falta de apareamiento y recombinación homeóloga está bajo el control positivo de un gen diploidizante (*Ph*), localizado en el brazo largo del cromosoma 5B. Existen distintos procedimientos de manipular el sistema genético *Ph* para obtener cromosomas recombinantes donde se hayan sustituido distintos segmentos por segmentos homeólogos procedentes de especies cultivadas o silvestres más o menos distantes del trigo. Por recombinación entre líneas de transferencia apropiadas surgen nuevos cromosomas recombinantes en los que el segmento homeólogo transferido quede reducido a un mínimo que incluya los genes que deseábamos introducir en el trigo.

La estrategia que acabamos de describir ha dado resultados prácticos satisfactorios en la transferencia de genes que confieren resistencia a enfermedades desde especies silvestres al trigo y creemos que puede dar resultados igualmente positivos en la modificación genética de la composición proteica del endospermo.

La utilización de las modernas técnicas de recombinación de ADN "in vitro" —lo que se ha denominado ingeniería genética— en la mejora de las plantas cultivadas supondrá la ruptura de las barreras que limitan el flujo de material genético en los tipos de manipulaciones que acabamos de describir. En principio, la ingeniería genética posibilitará la transferencia de genes desde otros organismos hasta las plantas cultivadas. El endospermo de los cereales es el principal producto agrícola: representan casi las tres cuartas partes de la superficie sembrada. La nueva tecnología debe permitir tanto "perfeccionar" este tejido para los fines tradicionales a que se ha venido destinando, como hacer expresarse en él nueva información genética que posibilite utilidades hasta ahora insospechadas. En el caso concreto del trigo, se está abordando la clonación de los genes que codifican para las proteínas mayoritarias del endospermo. Se trata de una etapa obligada para la caracterización y manipulación "in vitro" de estos genes en relación con los objetivos antes mencionados. Otra etapa importante a remontar será la concerniente a la obtención de vectores apropiados para reintroducir en la planta los genes alterados "in vitro", problema éste todavía sin resolver para los cereales, pero el hecho de que se hayan encontrado soluciones incipientes para otras especies vegetales hace concebir esperanzas de encontrar soluciones a medio plazo.