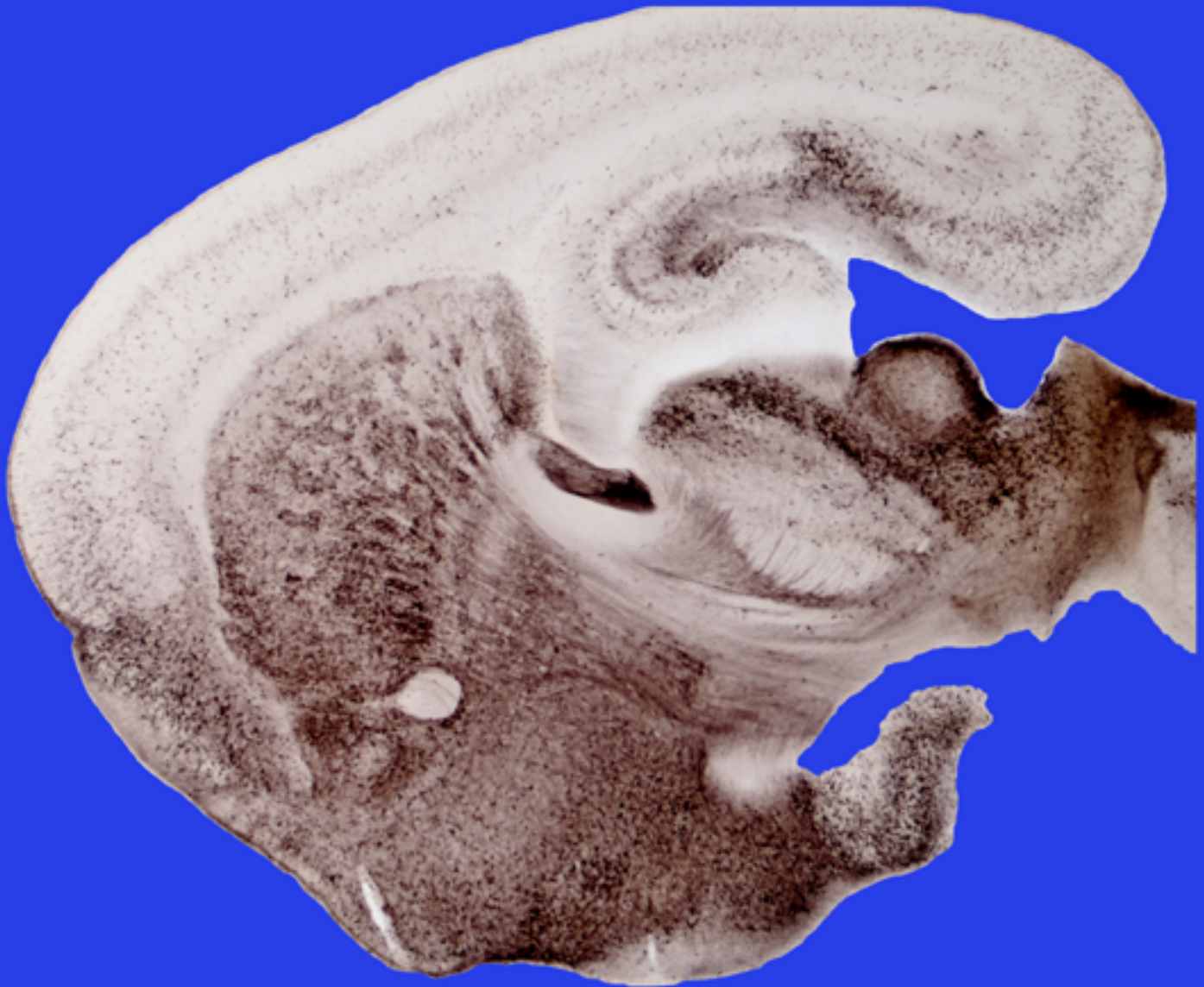


ENCUENTROS EN LA BIOLOGIA



Editor:

Salvador Guirado

Comité editorial:

Ramón Muñoz-Chápuli,
Antonio de Vicente,
José Carlos Dávila,
Francisco Cánovas,
Francisca Sánchez

Editado con la financiación del
Vicerrectorado de Investigación y
Doctorado de la Universidad de
Málaga.

El Centro de Profesorado de Málaga
colabora en la distribución de esta
publicación.

Diseño de la portada:

Salvador Guirado

Correspondencia a:

Encuentros en la Biología,
Salvador Guirado (Editor),
Depto. Biología Celular,
Facultad de Ciencias,
Campus de Teatinos,
29071 Málaga
Tfno.: 952 131961
email: guirado@uma.es

Dirección Internet:

[http://www.uma.es/publicaciones/
encuentros](http://www.uma.es/publicaciones/encuentros)

D.L.:MA-1.133/94

3 Lo mínimo que se despacha... para la vida celular

Alejandro Pérez García es Profesor Titular de Microbiología en la UMA.

5 Evolución histórica de la Biología (VII): los estructuralistas descubren cómo es el DNA para que la Biología sea, por fin, ciencia

Manuel Gonzalo Claros es Profesor Titular de Biología Molecular y Bioquímica en la UMA.

7 Potencial evolutivo y estructura genética de poblaciones

Alejandro Pérez García es Profesor Titular de Microbiología en la UMA.

LO MÍNIMO QUE SE DESPACHA...PARA LA VIDA CELULAR

Alejandro Pérez García

Uno de los aspectos que más ha intrigado a biólogos moleculares y celulares ha sido la idea o el concepto de "genoma mínimo", en otras palabras, la estimación e identificación del número mínimo de genes suficientes para construir o mantener un organismo con organización celular. Este problema ha sido abordado desde dos aproximaciones diferentes. La primera de ellas se llevó a cabo a mediados de los años 90 cuando los primeros genomas bacterianos comenzaron a estar disponibles; la idea consistía en identificar mediante un análisis computacional los genes que eran compartidos entre taxones diversos. La segunda aproximación perseguía identificar los genes esenciales para el crecimiento de una especie dada mediante mutagénesis con transposones. No obstante, estos experimentos se parecen mucho a algunos ya realizados por la naturaleza. Por ejemplo, hace unos pocos de cientos de millones de años un antepasado de *Escherichia coli* fue "domesticado" por los áfidos, lo que resultó en la eliminación del 75% del genoma original.

Los patógenos transmitidos por vectores usan a los insectos como lanzaderas para transferir individuos entre la población del hospedador, típicamente sin daño o con uno muy limitado para los tejidos o células del insecto. En contraste a tales acomodaciones esporádicas, algunos insectos han desarrollado relaciones obligadas con bacterias que no implican una transmisión posterior a otros eucariotas. Estas bacterias dependientes de hospedador han sido identificadas en insectos chupadores de floema de plantas o que se alimentan de la sangre de los animales. Las células bacterianas normalmente están contenidas en células especializadas del insecto denominadas bacteriocitos y la infección se transmite verticalmente a través de los huevos a la siguiente generación de insectos. En estos sistemas el papel de los microorganismos es producir compuestos que no están disponibles en la dieta habitual de estos insectos. Así, el floema de las plantas es rico en azúcares pero relativamente deficiente en aminoácidos, vitaminas y lípidos esenciales; es por ello por lo que estos áfidos son dependientes del endosimbionte *Buchnera aphidicola* que le aporta aminoácidos. De igual manera, la sangre de los vertebrados es escasa en las vitaminas del complejo B y por ello la dieta de insectos como la mosca tsetsé es complementada por endosimbiontes como *Wigglesworthia glossinidia* que es esencial para la producción de vitaminas.

Las bacterias dependientes de hospedador tienen los genomas más pequeños conocidos en la naturaleza, a menudo de un tamaño inferior a 1 Mb. En una revisión muy interesante, Klasson y Anderson [*Trends Microbiol.* **12**: 37-43 (2004)] con objeto de identificar el conjunto mínimo de genes requeridos para la vida comparan las dotaciones mínimas de genes que se han desarrollado de forma natural en estas bacterias, con las inferidas a través de los análisis computacionales y mutacionales. Los endosimbiontes de áfidos tienen genomas que oscilan entre las 618 y 641 kb y se ha estimado que estas bacterias han divergido de bacterias de vida libre con genomas que oscilarían entre 2 y 2,5 Mb que contendrían entre 1800 y 2500 genes. Se han propuesto dos posibles escenarios que explicarían el proceso de minimización sufrido por estos genomas. Por un lado, se argumenta que este proceso fue continuo, con genes que se fueron perdiendo individualmente a través de un elevado número de pequeñas deleciones. Por otro lado, está la sugerencia de que muchos de estos genes se perdieron de forma simultánea, de manera que a través de unos pocos eventos de deleción se hubieran podido perder múltiples genes. Según las tasas de deleción estimadas para los genomas de los endosimbiontes, esta segunda explicación parece la más plausible, de manera que a partir de procesos de recombinación entre secuencias repetidas pudieron perderse grandes bloques de DNA de forma muy rápida, tras lo cual la tasa de pérdida de genes se redujo gradualmente hasta alcanzar a las estimadas para los genomas de endosimbiontes actuales.

La primera comparación entre los genomas de *Haemophilus influenzae* y *Mycoplasma genitalium* sugería que aproximadamente 250 genes estaban conservados entre estas especies filogenéticamente divergentes [Mushegian y Koonin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 10268-10273 (1996)]. Un número similar de genes esenciales se estimó para *Mycoplasma* tras el análisis de mutantes insercionales [Hutchinson *et al*, *Science* **286**: 2165-2169 (1999)]. Un análisis computacional posterior que incluía los genomas de *M. genitalium* y los de los parásitos intracelulares *Rickettsia prowazekii* y *Chlamydia trachomatis* sugería que sólo 156 genes estaban conservados entre los genomas bacterianos y que no más de 81 de éstos estaban universalmente conservados [Koonin, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* **1**: 99-116 (2000)]. Los genomas de los endosimbiontes de áfidos secuenciados comparten un total de 426 genes. Estos genes incluyen los

genes seleccionados por el huésped para la síntesis de aminoácidos y un núcleo de genes necesarios para la división celular, replicación, transcripción y traducción. Si los genomas de *W. glossinidia* y *B. floridanus* se suman a la comparación anterior, el número de genes de endosimbiontes conservados se reduce a 276, de los cuales aproximadamente el 50% (156) están también conservados entre parásitos dependientes de hospedador. Las enzimas más importantes para la célula son aquellas que convierten el mensaje genético en proteínas y aseguran que el DNA sea adecuadamente copiado y transferido a las células hijas. Los endosimbiontes comparten 131 genes dedicados al procesado de la información, 99 de los cuales están conservados en bacterias, de éstos 86 están también presentes en parásitos intracelulares y 62 en todos los genomas secuenciados. La síntesis proteica es la categoría predominante con 99 genes compartidos por los genomas de endosimbiontes. El proceso de replicación aporta 10 genes conservados entre los endosimbiontes y otros genomas bacterianos, mientras que la transcripción depende de 7 genes conservados en endosimbiontes.

Las células asociadas a estos conjuntos mínimos de genes nunca crecen aisladas en la naturaleza. Hasta la fecha, todas las especies bacterianas con los genomas más pequeños están íntimamente asociadas a células eucarióticas ya sea en forma de endosimbiontes o parásitos. En total, 302 genes de *B. aphidicola* no pertenecen al grupo de genes conservados entre bacterias. Algunos de estos genes complementarios representan funciones seleccionadas por el huésped tales como las capacidades biosintéticas de aminoácidos, codifican componentes celulares estructurales, funciones bioenergéticas o proteínas hipotéticas. Las diferencias entre los tres genomas de *Buchnera* residen en 53 pseudogenes y 86 genes que están ausentes en una o más cepas. Los genes defectivos específicos de linaje representan a todas las categorías funcionales, por lo tanto, las fuerzas evolutivas reduccionistas que actúan sobre los genomas de los endosimbiontes parecen afectar a una gran variedad de procesos celulares. Hay unos pocos ejemplos palpables de deterioro génico que parecen ser resultado de los niveles cambiantes de selección que actúan sobre el hospedador. Así, se ha observado que varias especies de *Buchnera* están en proceso de perder parte de sus capacidades biosintéticas, lo cual es sorprendente porque se piensa que ésa es la razón misma de su existencia. En concreto, genes implicados en la reducción del sulfato y la biosíntesis de cisteína están acumulando mutaciones sin sentido y de desfase del marco de lectura. Esto puede estar asociado a daños en la planta durante el proceso de

alimentación del insecto que conduzca a un aumento de niveles de aminoácidos esenciales disponibles en el floema, y como resultado, los genes biosintéticos correspondientes pueden no estar bajo una presión selectiva importante. Algo similar se ha observado en el áfido *Diuraphia noxia* que ha empezado a acumular mutaciones en genes de biosíntesis de triptófano. *B. aphidicola* ha ido más allá y los genes de biosíntesis de cisteína y arginina han sido eliminados de su genoma.

Todas estas observaciones han conducido a la formulación de una serie de preguntas como: ¿Existe un conjunto mínimo de genes que explique el rango de tamaño observado de los genomas de los endosimbiontes? ¿Continuarán estos genomas disminuyendo hasta que finalmente se colapsen? ¿Evolucionarán estos endosimbiontes hasta orgánulos especializados con material genético transferido al genoma nuclear como mitocondrias y cloroplastos? La transmisión materna de los endosimbiontes a través de los huevos a la siguiente generación de áfidos establece el escenario para la transferencia de DNA bacteriano al genoma nuclear de sus hospedadores. Dicha transferencia ha sido documentada en *Wolbachia*, otra bacteria que se hereda maternalmente. Esta observación demuestra que los genes de los endosimbiontes, al igual que los genes de los orgánulos, pueden ser transferidos a los genomas nucleares de sus huéspedes, aunque todavía permanece por determinar si estos genes son expresados y si contribuyen a funciones bacterianas vitales [Kondo *et al*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**: 14280-14285 (2002)]. Sin embargo, es preciso tener en cuenta una notable diferencia entre orgánulos y endosimbiontes, ya que los primeros se multiplican libremente en el citoplasma de todas las células mientras que los segundos están compartimentalizados en células altamente especializadas. Esta localización puede imponer limitaciones especiales a la regulación de la expresión de cualquier gen de localización nuclear y también sobre los sistemas de transporte que mediaran el proceso de comunicación entre el núcleo y los endosimbiontes.

Según lo anteriormente expuesto, los genomas mínimos no representan el contenido genético de ninguna célula de vida libre y, por tanto, no parece posible consensuar una lista de genes candidatos que constituyan la dotación génica mínima óptima, ya que tal mínimo desnudo probablemente no rindiera un fenotipo que sea competitivo bajo condiciones naturales de vida libre. Por lo tanto, para que tenga sentido, las discusiones sobre genomas mínimos tienen que tener en cuenta los genomas ancestrales de los que derivan y los ambientes en los que los genomas mínimos

originados sostienen formas de vida competitivas. La idea original del concepto de genoma mínimo era la de definir el grupo de genes más pequeño que sería suficiente para permitir vida celular en las

condiciones más favorables imaginables, pero a tenor de lo que hemos aprendido de los genomas de endosimbiontes ¿sigue teniendo esta idea un verdadero interés?

EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE LA BIOLOGÍA (VII): LOS ESTRUCTURALISTAS DESCUBREN CÓMO ES EL DNA PARA QUE LA BIOLOGÍA SEA, POR FIN, CIENCIA

Manuel Gonzalo Claros

En el capítulo anterior vimos cómo en los años 40 son muchos los físicos que comienzan a preocuparse por las incógnitas que rodean a los seres vivos. Una de las primeras consecuencias de que los físicos comiencen a considerar los problemas biológicos la tenemos en el desarrollo de la cristalografía mediante difracción de rayos X sobre material biológico. Esta técnica se había comenzado a aplicar a sustancias sencillas gracias a los trabajos de sir William Henry Bragg (1862-1942) y su hijo William Laurence Bragg (1890-1971), lo que les valió el Nobel en 1915. Para interpretar los patrones resultantes propusieron un modelo matemático conocido como «transformada de Fourier», que se sigue utilizando hoy en día. La cristalografía daba buenos resultados con moléculas pequeñas, pero con macromoléculas biológicas los resultados eran todavía imprecisos, o bien tan complejos que supondrían un análisis que podría durar toda una vida de investigación. A comienzos de los años treinta, el bioquímico James Batcheller Sumner (1877-1955) había demostrado que era posible cristalizar proteínas. Su trabajo pasó desapercibido hasta que lo retomó otro bioquímico, John Howard Northrop (1891-1987), para obtener los primeros cristales de enzimas, lo que le valió el Nobel en 1946. Esos trabajos permitieron que, como hemos visto en el capítulo anterior, Astbury pudiera analizar por difracción proteínas y DNA. La cristalización animó en 1937 a Max Ferdinand Perutz (1914-*) a trabajar en la estructura de la hemoglobina con esta técnica, tarea que no logró culminar hasta 1959; por su parte, sir John Cowdery Kendrew (1917-1997) conoció a Perutz en 1946, lo que le animó a hacer lo mismo con la mioglobina desde entonces hasta 1959. Estos trabajos cristalográficos fueron premiados con el Nobel en 1962 a Perutz y Kendrew.

Pero esta vertiente estructuralista de la biología molecular llega a uno de sus cumbres cuando la técnica se perfecciona y en 1951 en Caltech los físicos Linus Carl Pauling (1901-1994) y Robert B. Corey proponen la estructura de la hélice α de las proteínas gracias a los análisis con difracción de

rayos X. Pauling consiguió su primer Nobel en 1954 (el segundo sería el Nobel de la Paz por su oposición a las armas nucleares) gracias a sus trabajos sobre la naturaleza de los enlaces químicos y su papel en la elucidación de las estructuras macromoleculares. En 1953, Fred Sanger (1918-*), trabajando en el Medical Research Council británico, consigue la primera secuencia de aminoácidos completa: la insulina. Así conseguirá su primer premio Nobel en 1958.

El modelo del tetranucleótido plano empieza a ponerse en entredicho seriamente cuando en 1950 el checo Erwin Chargaff (1905-2002) en la Universidad de Columbia descubre las leyes de complementariedad de las bases de los ácidos nucleicos, demostrando que la composición de los ácidos nucleicos de distintos organismos es mucho más diferente de lo que inicialmente se creía. Estos descubrimientos eran difícilmente explicables con el modelo del tetranucleótido plano. Cuando poco después aparece el modelo de Watson y Crick, Chargaff se incomodó con razón porque su trabajo —clave en ese modelo— no fue convenientemente agradecido; además, Chargaff no era partidario de construir modelos, técnica que usaron Watson y Crick para proponer la estructura del DNA. El golpe definitivo al modelo del tetranucleótido lo asestó Lord Alexander Robertus Todd en 1950 (1907-1997) al demostrar que los enlaces fosfoéster en el DNA son perfectamente normales, por lo que propone una estructura lineal y no cíclica para el DNA. Estos trabajos y los que realizó sobre las coenzimas le valieron el Nobel en 1957.

Durante 1951, Barbara McClintock (1902-1992) en el Cold Spring Harbor Laboratory se adelanta a su época al proponer la existencia de elementos genéticos móviles en el genoma del maíz: los transposones que tantas aplicaciones han abierto después. El Nobel se retrasó hasta 1983 porque, aunque en 1960 se detectó la transposición en bacterias, hasta 1970 no se detectó la actividad «transposasa».

En 1952 Luria y Weigle, en distintos laboratorios,

descubren los sistemas de restricción a la infección viral, lo que permitirá más adelante descubrir las enzimas de restricción. A su vez, Joshua Lederberg y su esposa Esther M. Lederberg desarrollan un método a base de réplicas de placas para demostrar que las mutaciones aparecen de forma azarosa e independiente de los procedimientos de selección. Sus trabajos permitieron profundizar en la estructura genética y la recombinación en los microorganismos le valió el Nobel en 1958 junto a Beadle y Tatum. Fue J. Lederberg quien introdujo el término plásmido en 1952 para explicar la herencia extracromosómica. Este mismo año, los trabajos realizados en el Cold Spring Harbor Laboratory por Alfred Hershey y Martha Chase (proviene del grupo del bacteriófago) demuestran que el material genético que se transmite a la progenie del fago es DNA, mientras que las proteínas que hay en la cápsida no. Se empiezan a acumular demasiados resultados que el modelo del tetranucleótido no explicaba.

Sin que haya un registro histórico evidente, entre 1950 y 1953 la mayor parte de la comunidad científica empieza a admitir que el material genético es el DNA, por lo que comienza una nueva ola de experimentos dedicados a conocer su estructura real. A comienzos de los 50, la químico-física Rosalind Elsie Franklin (1920-1958) abre una línea de investigación en el laboratorio de Sir John Turton Randall (1905-1984) en el King's College sobre el estudio de la estructura del DNA mediante difracción de rayos X. Así encontró que el DNA podía encontrarse en dos formas helicoidales distintas con los fosfatos hacia el exterior (las formas que hoy conocemos como DNA-A y DNA-B). Simultáneamente, Linus Pauling propuso un modelo de triple hélice con los fosfatos hacia el interior y las bases hacia afuera, en clara herencia del modelo del tetranucleótido. Es difícil entender que el dos veces Nobel Pauling no reparara en que su propuesta era inviable puesto que la repulsión electrostática entre los grupos fosfato desestabilizarían la estructura. Probablemente en esa época era más dificultoso encontrar una manera de colocar las bases nitrogenadas hacia el interior de la estructura sin que surgieran impedimentos estéricos, a las posibles repulsiones entre las cargas de los fosfatos. La clave de la doble hélice del DNA la pusieron el bioquímico americano James Dewey Watson (1928-*) y el biofísico inglés Francis Harry Compton Crick (1916-*) —trabajando en la Universidad de Cambridge en Inglaterra—. Parte de su trabajo fue recopilar los resultados dispersos que sobre ácidos nucleicos existían, así como la información sin publicar del laboratorio de Randall donde trabajaba Franklin. Gracias a una visión genial de las reglas de Chargaff así como a las

«inocentes confidencias» de neozelandés Maurice Wilkins (1916-*), también del laboratorio de Randall, lograron elaborar el conocido modelo de la doble hélice. En un breve artículo en Nature en 1953 describen lo que hoy se conoce como DNA-B, el posible modelo de replicación del DNA, y sus mutaciones. La elucidación de la estructura del DNA es uno de los descubrimientos esenciales para la biología molecular y, en general, para la ciencia de este siglo. Watson, Crick y Wilkins (Franklin había muerto de cáncer en 1958 a los 37 años) reciben el Nobel por esto en 1962, ya que en el mismo número de la revista Nature aparecieron el artículo sobre el modelo de Watson y Crick así como los resultados cristalográficos que Wilkins, por un lado, y Franklin, por otro, tenían para apoyar el modelo.

Francis Crick ha demostrado ser un gran científico ya que con el modelo de la doble hélice también propuso la existencia de la tautomería y la replicación semiconservativa del DNA; en 1955 propuso que para que el RNA sintetic proteínas debe existir una molécula acopladora de los aminoácidos a la secuencia de ácidos nucleicos (lo que Paul Berg (1926-*) comprobó que era el tRNA al año siguiente); en 1956 propone el dogma central de la Biología Molecular, que en palabras del propio Crick «el DNA dirige su propia replicación y su transcripción para formar RNA complementario a su secuencia; el RNA es traducido a aminoácidos para formar una proteína»; en 1957 propone que el código genético ha de leerse en tripletes que no se solapan ni puntúan (que lo demostró en 1961 junto a Sidney Brenner); y en 1966 propone la hipótesis del titubeo (wobble) del tRNA al leer el mRNA.

A mediados del siglo XX, y una vez que ya se conoce la naturaleza química del material genético, la investigación puramente mecanicista empieza a decaer, ya que ahora se prefiere explicar los procesos biológicos en el contexto del organismo entero (in vivo) en lugar de en condiciones artificiales (in vitro). Es lo que se conoce como el materialismo holístico o materialismo integral. Por eso disminuye la importancia de los descubrimientos bioquímicos y se da más importancia a todo lo relacionado con la biología molecular y la genética molecular. Hasta entonces, todos los intentos por abordar los temas de forma generalista iban cargados de elucubraciones, una visión vitalista de los seres vivos y una ausencia de rigurosidad científica. Pero los trabajos realizados por físicos y fisico-químicos que reorientaron sus investigaciones para resolver problemas biológicos a mediados de siglo dan un cambio a la forma de trabajar y la actitud frente a los problemas biológicos. La Biología deja de ser una especie de filosofía y pasa a ser una verdadera ciencia con un método científico claro.

POTENCIAL EVOLUTIVO Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE POBLACIONES

Alejandro Pérez García

Los agrosistemas modernos son un magnífico escenario para estudiar la evolución de los microorganismos fitopatógenos, ya que en muchos casos la durabilidad de los programas de control de enfermedades va estar condicionada por el potencial evolutivo de las poblaciones del patógeno que se pretende controlar. Así, por ejemplo, los patógenos que presenten un mayor potencial evolutivo tendrán una mayor probabilidad de escapar a programas de control basados en el empleo de productos fitosanitarios o en el uso de cultivares resistentes que aquellas poblaciones que presenten un potencial evolutivo menor. Este mayor o menor potencial evolutivo va a ser el reflejo de la estructura genética de las poblaciones del patógeno. Se entiende por estructura genética de una especie a la cantidad y distribución de la variación genética dentro y entre poblaciones de dicha especie. La estructura genética de una población concreta viene determinada por la historia evolutiva de esa población y va a ser consecuencia de las interacciones entre los 5 factores que condicionan la evolución de las poblaciones: mutación, deriva genética, flujo génico, sistema de reproducción y selección. La estructura genética de las poblaciones de un patógeno puede variar rápidamente en el tiempo y en espacio mientras dichas poblaciones evolucionan o se adaptan en respuesta a cambios locales, pero la estructura genética global de una especie es poco probable que cambie en una escala de tiempo humana, salvo raras excepciones. En una revisión muy recomendable, McDonal y Linde (2002) [*Annu. Rev. Phytopathol.* **40**: 349-379] proponen la predicción del potencial evolutivo de los agentes fitopatógenos basada en el análisis de su estructura genética como información esencial a tener en cuenta para el diseño de los programas de control de las enfermedades de plantas y presentan una tabla de valoraciones de riesgo para diferentes agentes fitopatógenos en función de sus respectivos potenciales evolutivos. De esta manera, lo que conocemos como Epidemiología molecular nos aporta información muy relevante para el control de una enfermedad desde la óptica de la genética de poblaciones del patógeno.

La mutación es la fuente fundamental de variación genética ya que conduce a cambios directos en la secuencia de DNA y a la creación de nuevos alelos en las poblaciones. Las poblaciones con más alelos tienen mayor diversidad génica, y por tanto, mayores posibilidades de crear nuevas

cepas capaces, por ejemplo, de superar a genes de resistencia mediante mutaciones en los genes de avirulencia complementarios, o de desarrollar resistencias a fungicidas mediante mutaciones en los genes que codifican las dianas de los mismos. Las tasas de mutación son normalmente bajas aunque éstas pueden diferir entre los diferentes loci y patógenos. Según este modelo, los patógenos con tasas de mutación más altas son los que presentan un mayor riesgo. No obstante, es difícil imaginar un programa de control que pueda reducir las tasas de mutación de un patógeno.

El tamaño de la población puede afectar a la frecuencia en la que un mutante esté presente e influir en la diversidad génica de una población a través de un proceso denominado deriva genética. Como las tasas de mutación son relativamente constantes y casi siempre bastante bajas, las poblaciones grandes tienen normalmente una mayor diversidad génica (más alelos, más mutantes) que las poblaciones pequeñas. La deriva genética ocurre cuando una población se ve sometida a un cuello de botella (acontecimiento catastrófico que causa una severa reducción en el tamaño poblacional) o a un efecto fundador (como cuando una población pequeña del patógeno coloniza a una nueva población de huésped), circunstancias en las que la frecuencia de los alelos mutantes en las poblaciones supervivientes o fundadoras puede diferir significativamente de la frecuencia de la población original. Según esta idea, los patógenos que se presenten en poblaciones mayores tendrán un mayor potencial evolutivo y los que sufran de manera regular severas reducciones en sus tamaños poblacionales serán los que presenten una menor diversidad y por tanto una capacidad de adaptación más lenta.

El flujo génico es el proceso mediante el cual determinados alelos (genes) o individuos (genotipos) son intercambiados entre poblaciones separadas geográficamente. Según este planteamiento, el flujo génico puede incrementar sustancialmente el tamaño de una población mediante el incremento de tamaño del "vecindario genético" a través del cual se intercambian genes y genotipos y facilitar el movimiento de alelos mutantes entre poblaciones individuales del patógeno. Por tanto, patógenos que presenten un alto grado de flujo génico presentarán una diversidad genética mayor porque presentan un tamaño de población efectivo mayor. Con este planteamiento, los patógenos con mayor riesgo

suelen ser aquéllos que producen propágulos con capacidad de dispersión a larga distancia tales como royas y oidios que con frecuencia presentan vecindarios genéticos que comprenden continentes enteros, como por ejemplo el caso de *Puccinia* en Norteamérica.

El sistema de reproducción va a afectar a la manera en que la diversidad genética es distribuida dentro y entre poblaciones. La reproducción puede ser sexual, asexual o mixta, como ocurre con muchos hongos que presentan tanto reproducción sexual como asexual. Muchos de los patógenos más destructivos y peligrosos experimentan una combinación de ciclos sexuales y asexuales que permiten generar altos niveles de diversidad génica y genotípica. Durante el ciclo sexual se generan muchas nuevas combinaciones de alelos (genotipos) que pueden ser probadas en diferentes ambientes como pueden ser la presencia de nuevos genes de resistencia o fungicidas. Durante la fase asexual los genotipos más aptos se mantienen a través de una reproducción clonal e incluso pueden aumentar su frecuencia. Ahora bien, la distribución espacial y temporal de clones o líneas clonales dentro o entre poblaciones dependerá principalmente de las capacidades de dispersión y supervivencia de los propágulos asexuales. Si el propágulo asexual es capaz de dispersarse a larga distancia, entonces el clon con mayor capacidad de supervivencia podrá ser distribuido ampliamente a través de un flujo genotípico relativamente rápido, provocando una epidemia. Según este modelo, los patógenos que experimentan procesos de recombinación regulares serían los que presentan un mayor riesgo para los cultivos.

Finalmente, la selección es la principal fuerza que conduce los cambios de frecuencias de alelos mutantes. Por ejemplo, se produce una fuerte selección direccional con el empleo intensivo de un nuevo gen de resistencia o un nuevo fungicida, lo que conduce a un incremento de la frecuencia de mutantes virulentos (que hayan perdido el elicitador complementario al gen de resistencia) o resistentes al fungicida. Se conocen muchos ejemplos de superaciones de genes de resistencia y de fenómenos de resistencia a fungicidas que demuestran que la selección es un mecanismo evolutivo eficaz en la mayoría de los agrosistemas modernos que están basados en la uniformidad genética de los monocultivos y en el uso intensivo de los productos fitosanitarios. Por lo tanto, los patógenos de mayor riesgo serían los sometidos a una mayor presión selectiva de los programas de control.

Según lo anteriormente expuesto, queda claro que los patógenos de mayor riesgo para la agricultura

son los que presentan un mayor potencial evolutivo. Una vez evaluado el potencial evolutivo de un patógeno determinado, deberían desarrollarse programas de control de la enfermedad que fueran encaminados a disminuir la diversidad genética del patógeno en cuestión mediante el mantenimiento de niveles reducidos de las poblaciones del patógeno; limitando el movimiento de genes y genotipos entre poblaciones; limitando la ocurrencia de reproducción sexual o la persistencia y distribución de propágulos asexuales; utilizando cultivares portadores de varios genes de resistencia o mediante la alternancia de cultivares portadores de diferentes genes de resistencia; y sobre todo diversificando el uso de fungicidas. De entre los patógenos con mayor riesgo evolutivo destacan un numeroso grupo de hongos fitopatógenos denominados oidios, porque en ellos se concretan de forma evidente las 5 fuerzas evolutivas. Así, durante la mayoría de las estaciones de cultivo se reproducen asexualmente de forma prolífica mediante la formación de conidias que son dispersadas por el viento a largas distancias. Presentan también una fase sexual (teleomorfo) que conduce a la formación de cleistotecios, estructuras que albergan las ascosporas, o lo que es lo mismo, a los individuos portadores de las nuevas dotaciones genéticas. Están sometidos a una fuerte selección ya que su control prácticamente se reduce a la aplicación repetida de fungicidas y al empleo de algunos cultivares resistentes. Finalmente, aunque las tasas de mutación se desconocen, se sabe que en muchos casos, fenómenos de resistencia a fungicidas están asociados a mutaciones.

El estudio de los oidios se hace complicado debido a su naturaleza de parásitos obligados. Desde el punto de vista genético, los caracteres que se pueden estudiar son aquellos que tienen que ver con su adaptación al huésped, básicamente raza, espectro de huésped y resistencia a fungicidas. Desde el punto de vista molecular, debido a la dificultad de extraer cantidades suficientes de DNA de unos organismos no cultivables en medios de cultivos convencionales, nuestras posibilidades de estudio se limitan al uso de las diferentes aplicaciones de la "reacción en cadena de la polimerasa" o PCR. La secuenciación del genoma de *Blumeria graminis* (oidio de los cereales), el oidio de mayor importancia económica, abriría las puertas de la genómica a los que trabajamos con estos difíciles microorganismos, de manera que las posibilidades de profundizar en el conocimiento de la biología de estos hongos frente a las actuales limitaciones serían...¿infinitas?