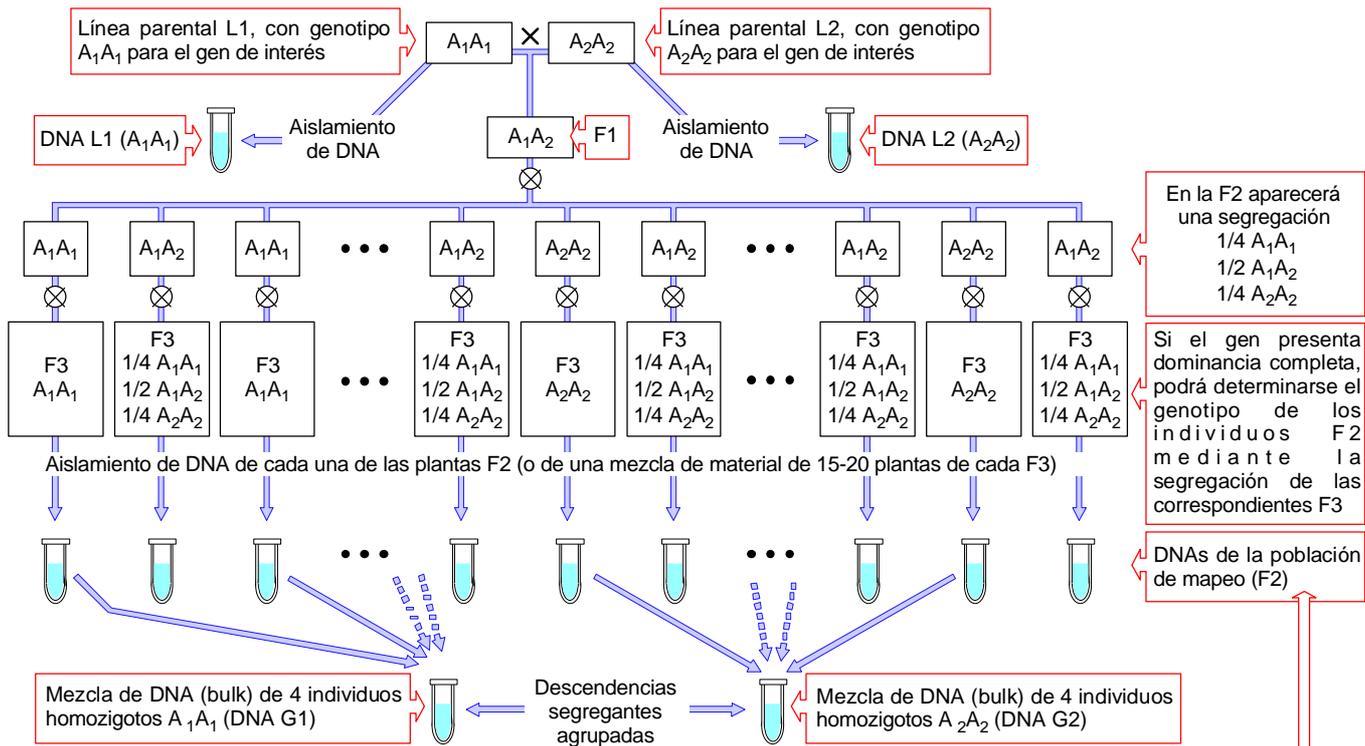


Búsqueda de marcadores (RAPDs) ligados a genes de interés. Descendencias segregantes agrupadas (BSA)

El método de las descendencias segregantes agrupadas (bulk segregant analysis), para buscar marcadores ligados a genes de interés, fue ideado por Michelmore et al. (1991). A continuación se indica esquemáticamente en qué consiste este método.

1.- Obtención de material, aislamiento de DNA y constitución de grupos (bulks)



2.- Búsqueda de RAPDs polimórficos entre grupos

La búsqueda de marcadores ligados al gen de interés se lleva a cabo mediante el análisis de RAPDs en los DNAs de las dos líneas (L1 y L2) y de las descendencias agrupadas (G1 y G2). En la figura de la derecha se indican esquemáticamente los resultados que pueden obtenerse para un producto de amplificación específico (marcador) que muestre diferencias entre las dos líneas parentales L1 y L2.

Puede calcularse la probabilidad de obtener cada uno de estos resultados en función de la fracción de recombinación (r) existente entre el gen de interés (A₁A₂) y el marcador (M: presencia de amplificación; m: ausencia de amplificación). Como la presencia de amplificación es dominante ($M > m$), si el genotipo de la línea L1 es A₁A₁MM, y el de la Línea L2 es A₂A₂mm (resultados 1 a 4) la probabilidad de que un individuo A₁A₁ de la F2 no presente amplificación para el marcador es: $P_{A1m} = r^2$, y la probabilidad de que un individuo A₂A₂ de la F2 no presente amplificación para el marcador es: $P_{A2m} = (1-r)^2$ (véase [segregación F2 para dos genes ligados](#)).

Por tanto, para mezclas de DNA (bulks) de n individuos, las probabilidades de los resultados 1 a 4 son:

$$\begin{aligned} \text{Probabilidad resultado 1} &= [1 - (P_{A1m})^n] \times [1 - (P_{A2m})^n] = (1-r^{2n}) \times [1 - (1-r)^{2n}] \\ \text{Probabilidad resultado 2} &= [1 - (P_{A1m})^n] \times (P_{A2m})^n = (1-r^{2n}) \times (1-r)^{2n} \\ \text{Probabilidad resultado 3} &= (P_{A1m})^n \times [1 - (P_{A2m})^n] = r^{2n} \times [1 - (1-r)^{2n}] \\ \text{Probabilidad resultado 4} &= (P_{A1m})^n \times (P_{A2m})^n = r^{2n} \times (1-r)^{2n} \end{aligned}$$

Si el genotipo de la línea L1 es A₁A₁mm y el de la Línea L2 es A₂A₂MM (resultados 5 a 8), en la F2, la probabilidad de que un individuo A₁A₁ no presente amplificación para el marcador es: $Q_{A1m} = (1-r)^2$, y la probabilidad de que un individuo A₂A₂ no presente amplificación para el marcador es: $Q_{A2m} = r^2$; por lo que las probabilidades de los resultados 5 a 8 son:

$$\begin{aligned} \text{Probabilidad resultado 5} &= [1 - (Q_{A1m})^n] \times [1 - (Q_{A2m})^n] = [1 - (1-r)^{2n}] \times (1-r^{2n}) \\ \text{Probabilidad resultado 6} &= [1 - (Q_{A1m})^n] \times (Q_{A2m})^n = [1 - (1-r)^{2n}] \times r^{2n} \\ \text{Probabilidad resultado 7} &= (Q_{A1m})^n \times [1 - (Q_{A2m})^n] = (1-r)^{2n} \times (1-r^{2n}) \\ \text{Probabilidad resultado 8} &= (Q_{A1m})^n \times (Q_{A2m})^n = (1-r)^{2n} \times r^{2n} \end{aligned}$$

En la figura de la derecha se representan gráficamente (en función de r) las probabilidades de obtener los distintos resultados para $n=4$ individuos. Los resultados 2 y 7 aparecerán con una probabilidad muy elevada para marcadores estrechamente ligados al gen de interés, y con una probabilidad muy baja para marcadores no ligados a dicho gen. Por ello, los marcadores que presenten los resultados 2 o 7 podrán seleccionarse como marcadores potencialmente ligados al gen de interés. Estos marcadores deben analizarse en la población de mapeo para confirmar el [ligamiento](#) y, en su caso, establecer la correspondiente [distancia genética](#).

Los marcadores seleccionados como potencialmente ligados al gen de interés, deben analizarse en la población de mapeo para confirmar el ligamiento y, en su caso, establecer la correspondiente distancia genética.

Resultados posibles para un producto de amplificación (marcador) polimórfico

	DNA L1 (A ₁ A ₁)	DNA L2 (A ₂ A ₂)	DNA G1 (A ₁ A ₁)	DNA G2 (A ₂ A ₂)	
Producto de amplificación presente en la línea parental L1 y ausente en la línea parental L2	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Resultado 1
	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Resultado 2
	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Resultado 3
	Presente	Ausente	Presente	Presente	Resultado 4
Producto de amplificación presente en la línea parental L2 y ausente en la línea parental L1	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Resultado 5
	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Resultado 6
	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Resultado 7
	Ausente	Presente	Presente	Presente	Resultado 8

Marcador potencialmente ligado al gen de interés (Resultados 2 y 7)

