



COMPLEMENTANDO HERRAMIENTAS PARA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO VEGETAL: INGENIERÍA GENÉTICA Y MEJORAMIENTO CONVENCIONAL

Marco Dalla-Rizza¹, Claudia Schwartzman¹,
Federico Boschi², Matías Maidana¹,
Sara Murchio¹, Francisco Vilaró³

¹Unidad de Biotecnología

²INASE

³Programa Nacional de Producción Hortícola

La agricultura mundial se encuentra hoy ante el desafío de satisfacer la creciente demanda por productos alimenticios y fibras, en un contexto de disminución del área productiva donde los recursos para la producción son cada vez más limitados. Mientras algunas de estas demandas implican respuestas de corto plazo, otras implican resultados que se podrán cuantificar en el mediano y largo plazo. En este escenario de alta complejidad, la biotecnología junto a otras tecnologías tiene un rol importante para lograr satisfacer esas demandas de manera sustentable.

La biotecnología ha sido definida por la FAO como toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados, para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos (FAO/OMS, 2000). Actualmente integra una gran

gama de técnicas desde tradicionales de mejoramiento (como la selección genética) a modernas basadas en la tecnología del ADN. A modo de ejemplo, se puede encontrar procesos biotecnológicos en la industria farmacéutica, para la obtención de antibióticos, vacunas, hormonas, o en la agricultura, para introducir a los vegetales características de interés productivo o nutricional como resistencia a herbicidas y/o patógenos o producción de alimentos con mejores características nutritivas.

ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS (OGM)

Los seres vivos mantienen en sus genes (formados por secuencias de ADN) la información para la síntesis y regulación de las moléculas que componen sus estructuras y características particulares. El mejoramiento genético tradicionalmente gestiona recursos genéticos en especies de interés productivo mediante la combinación, selección y mejora de caracteres deseados, considerando su adaptación, productividad y la conservación de la variabilidad genética. El patrimonio genético (o acervo génico) de una especie o población es el grupo completo de alelos únicos presentes en el material hereditario de la misma.

A partir del conocimiento de las funciones y características de distintos genes y el desarrollo de la biología molecular e ingeniería genética se desarrollaron estrategias que permiten que los genes sean modificados, manipulados o transferidos entre organismos de distintas especies. La transferencia de genes por ingeniería genética de un organismo a otro produce organismos genéticamente modificados (OGM). En el caso de que el gen que se transfiere pertenezca a otra especie el resultante es una planta transgénica.

En todos los casos las plantas modificadas adquieren la característica dada por el gen incorporado, la que –luego de un proceso de caracterización y selección– puede ser manifestada y transmitida a la descendencia.

El mejoramiento genético convencional también ha logrado hacer posible cruzamientos desde especies relacionadas con dificultad de cruzamiento, incorporando características de interés. La transgénesis amplía el potencial de técnicas tradicionales incorporando acervos génicos no relacionados, por lo que la diferencia más relevante que tienen las plantas transgénicas con aquellas mejoradas por métodos convencionales es que se aumenta el acervo génico disponible. Si no fuera por este hecho no habría diferencias sustanciales con plantas mejoradas por cruzamientos, o generadas por modificación de su ADN por métodos químicos o físicos, como por ejemplo la inducción de mutaciones.

Existen varias estrategias que han sido desarrolladas para la transferencia de genes en vegetales. Dentro de las más utilizadas se encuentran las biológicas mediante *Agrobacterium tumefaciens* y las físicas mediante biolística. Adicionalmente, el nuevo gen, con las propiedades deseadas, puede ser incorporado a la célula junto con un gen marcador y elementos reguladores de su expresión en la planta. El marcador confiere una propiedad para identificar y seleccionar las células del cultivo que han incorporado el nuevo gen. En los últimos años, se han generado técnicas moleculares basadas en daño y reparación celular que permiten además de incorporar ADN al genoma elegir el sitio de inserción permitiendo un mayor control en el proceso y optimizar el ambiente genómico de expresión (Carroll y Charo, 2015).

OGM EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

Parte de los alimentos producidos mediante el uso de biotecnología moderna pueden ser directamente OGM, o sus derivados que se utilizan en la elaboración de alimentos. Entre los cultivos modificados en el Uruguay se encuentra la soja y sus derivados (harinas, lecitina, proteínas, aceite), y el maíz y sus derivados (almidón y aceite). Entre los productos alimenticios elaborados con derivados de OGM pueden encontrarse: galletitas, salsas, chocolates, embutidos, barras de cereales, helados, etc. (Tamasi *et al.*).

Los OGM de primera generación son los más difundidos comercialmente hasta el presente. En estos se ha incorporado la resistencia al glifosato, que es un herbicida de amplio espectro, lo que facilita las actividades de manejo productivo, o genes de la bacteria *Bacillus thuringiensis* (Bt) con efecto insecticida, que genera en las plantas resistencia a ciertas larvas de insectos que producen graves daños a los cultivos.

Por su parte, en los OGM de segunda generación, que actualmente no están presentes comercialmente en nuestro país, se pretende mejorar la composición del producto o su valor nutritivo, por medio de la inclusión de vitaminas, atributos medicinales, modificación del contenido de proteínas o ácidos grasos, entre otros. Los OGM de segunda generación también pueden ofrecer ventajas a productores y/o a la industria procesadora, a través de variedades desarrolladas para una mayor tolerancia a sequías, inundaciones, heladas, salinidad del suelo y otros factores ambientales (García Préchac *et al.*, 2010).

BIOSEGURIDAD DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

El concepto de bioseguridad definido en forma amplia está relacionado con la protección de la salud humana, vegetal y animal y la preservación del medio ambiente desarrollando herramientas para evaluar el impacto en el agroecosistema de los diferentes sistemas de producción.





En relación a los cultivos derivados de la tecnología transgénica, estos son analizados rigurosamente mediante la metodología de análisis de riesgo (AR) internacionalmente aceptada, que incluye la evaluación de riesgo ambiental (ERA) antes de su liberación al ambiente.

La ERA es un proceso que integra la identificación de daños potenciales, su probabilidad y consecuencias de la exposición. La ERA tiene la finalidad de proporcionar una estimación del riesgo con el fin de informar a los tomadores de decisión. Como primer paso de la ERA está la formulación del problema que establece, según los objetivos de la política de protección ambiental, cuáles son los parámetros de mayor relevancia para la evaluación del riesgo. Su alcance, los puntos finales de evaluación y la metodología se dirigen a un problema planteado de forma explícita con un enfoque para el análisis (Wolt *et al.*, 2010).

COEXISTENCIA DE CULTIVOS OGM Y NO-OGM

La coexistencia refiere a un sistema de producción que permita la elección del cultivo, ya sea transgénico, orgánico o convencional (permitiendo la existencia conjunta de al menos dos de ellas) e integra el concepto de análisis de riesgo económico una vez que se ha discutido y aprobado por la autoridad competente.

Las medidas que involucran la coexistencia implican técnicas para evitar la mezcla no deseada de cultivos

OGM y no-OGM y las posibles consecuencias económicas asociadas. Estas incluyen medidas técnicas como distancias de aislamiento, limpieza de la maquinaria, medidas organizacionales como el agrupamiento voluntario de campos, prevenciones en la siembra, cosecha, transporte, almacenaje, coordinado a su vez con el análisis de cultivos no transgénicos para que permanezcan debajo de un umbral de tolerancia de pureza establecido con el correspondiente etiquetado (Czarnak-Kłós M. y, Emilio Rodríguez-Cerezo, 2010).

DESARROLLO DE OGM EN INIA

La Unidad de Biotecnología de INIA trabaja en varios proyectos enfocados a utilizar estrategias de biología molecular con el fin de generar variantes genéticamente modificadas que muestren resistencia a patógenos, para las cuales las estrategias tradicionales no han sido satisfactorias. Adicionalmente, se está evaluando la producción de compuestos con actividad antimicrobiana en plantas empleando mecanismo de síntesis proteica de los vegetales.

Uno de los proyectos que se están llevando a cabo busca generar variedades resistentes a la murchera de la papa, causada por la bacteria *Ralstonia solanacearum*. Esta es una de las principales enfermedades que afectan a esta especie a nivel global limitando en gran medida su cultivo en zonas cálidas. En nuestro país ha ocasionado pérdidas importantes en algunos años, con riesgo potencial para la producción de semilla. Afecta además a cerca de 200 otras especies de plantas, entre las que se incluyen los cultivos de tomate y banana. *R. solanacearum* es un patógeno de suelo, ingresa a las plantas por la raíz y se disemina rápidamente a las partes aéreas, provocando síntomas de marchitamiento y conduciendo, en última instancia, a la muerte de la planta y pudrición de los tubérculos. Esta bacteria se difunde a través de tubérculos semilla infectados, agua, herramientas y tiene la capacidad de persistir en los suelos y rastros de cultivo por varios años, lo que hace difícil su erradicación (Huet, 2014).

Desde hace varias décadas se han desarrollado trabajos en mejoramiento genético, liderados inicialmente por el Centro Internacional de la Papa (CIP), para incorporar resistencia a la murchera de la papa, utilizando el pool genético disponible. Los resultados obtenidos han sido limitados hasta el presente; aún no se dispone de variedades resistentes a nivel comercial.

La Unidad de Biotecnología, en colaboración con el Programa Nacional de Horticultura, la Universidad de la República y el Sainsbury Laboratory del Reino Unido, está trabajando en la generación de variedades con resistencia a la murchera de la papa y a cancro bacteriano en tomate. Esto es realizado mediante la incorporación de un gen de defensa natural, el receptor EFR proveniente de la familia *Brassicaceae*. Este receptor permite que la planta detecte componentes bacterianos

y genere una respuesta inmune contra el patógeno basado en sus propios genes de defensa. Con este fin se transformaron genotipos de papa y de tomate introduciéndoles el gen codificante para EFR.

PROGRAMA EN MEJORAMIENTO GENÉTICO DE PAPA EN INIA

El programa tiene actualmente en desarrollo comercial cuatro variedades de papa con características diferenciales y adaptadas a diferentes sistemas de producción locales. Asimismo, en la última década se desarrollaron trabajos en forma conjunta con UdelaR para incorporar la resistencia disponible a nivel de especies silvestres locales de papa (*S. commersonii* y *S. chacoense*) mediante la utilización de metodologías especializadas (poliploidización sexual y especies puente, González *et al.*, 2010).

Como resultado se ha obtenido germoplasma promisorio, con características mejoradas y cierto nivel de resistencia a murchera, lo que se ha comprobado en evaluaciones realizadas en colaboración con CIP y Embrapa.

Para evaluar la eventual interacción entre diferentes mecanismos de resistencia se transformaron la variedad susceptible, INIA Iporá y el clon resistente 09509.6 del programa de mejoramiento genético de INIA. Estas plantas fueron estudiadas en su respuesta a la inoculación con *R. solanacearum* en condiciones controladas.

Si bien estos resultados son preliminares y resta realizar una caracterización final de las variedades transformadas, la incorporación en papa del gen de EFR estaría generando una respuesta de resistencia frente a la murchera de papa. Además, el clon 09509.6 muestra cierto nivel de resistencia respecto a la variedad susceptible.

Por otra parte, la transformación de ambos genotipos demuestra una respuesta diferencial al patógeno, expresado como evolución del índice de enfermedad en el tiempo o área debajo de la curva (Figura 1). Varios eventos del clon 09509.6 muestran niveles muy altos de resistencia en condiciones de alta exigencia.

Esta respuesta diferencial se podría explicar por una complementación entre ambos componentes de resistencia, incorporados mediante métodos convencionales y de ingeniería genética. Por tanto, mediante la integración de estas técnicas sería factible el desarrollo de cultivares altamente resistentes a esta enfermedad, adaptables a diferentes regiones.

Para finalizar, cabe destacar que este artículo no profundiza en las temáticas relacionadas con los aspectos sociales, éticos, legales, económicos o ambientales relacionados con la tecnología asociada a transgénicos, donde el impacto del uso de estas tecnologías debe ser evaluado y controlado caso a caso y paso a paso para lograr un equilibrio entre el desarrollo social, económico productivo y ambiental.

Otro de los proyectos que está en desarrollo en la Unidad de Biotecnología es la generación de las denominadas granjas moleculares (molecular farming). En esta estrategia, las plantas son modificadas mediante la tecnología del ADN recombinante para la producción de productos de interés. Particularmente, en INIA se está evaluando la producción de péptidos antimicrobianos. Los péptidos antimicrobianos (AMP por sus siglas en inglés) son producidos por la mayoría de las formas de vida como componente de defensa inmediata contra las infecciones. Una estrategia emergente es la aplicación biotecnológica de AMP para su utilización en control de patógenos, como alternativa a compuestos químicos. Sin embargo hasta el momento su disponibilidad es una limitante en su empleo en la producción a gran escala. Esta tecnología entonces abre la posibilidad de producción de compuestos naturales con una aplicación directa en producción, donde es necesario evaluar la relación costo beneficio y su impacto ambiental.

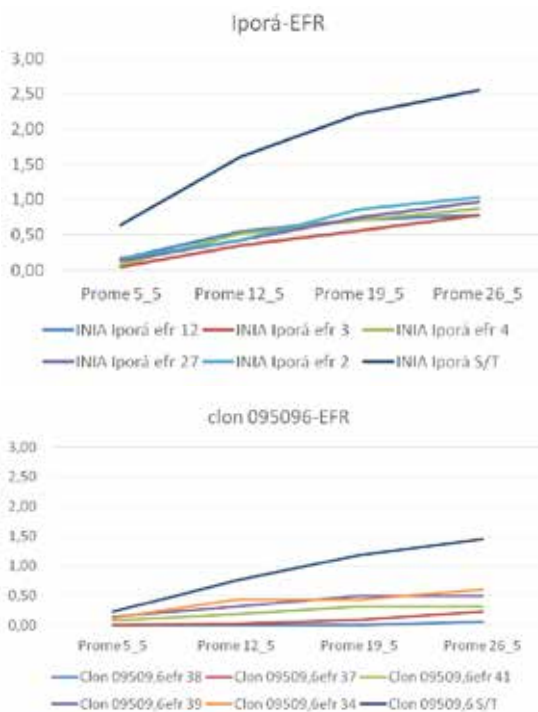


Figura 1 - Respuesta de papa-EFR a *R. solanacearum*, de variedades INIA Iporá y el clon 09509.6 proveniente del programa de mejoramiento genético de papa de INIA Las Brujas transformadas con el gen EFR. Se muestra el índice de enfermedad en función del tiempo.

ALGUNAS CONSIDERACIONES QUE APORTAN A LA ERA DE LA PAPA-EFR

La papa cultivada en nuestro país se propaga exclusivamente en forma vegetativa o clonal. Esta planta por lo general alcanza a florecer y debería encontrarse en cercanía de plantas silvestres para tener alguna chance de cruzamiento sexual. Sin embargo, la posibilidad de cruzamiento con nuestras especies silvestres (*S. commersonii*, *S. chacoense*) se ve muy reducida debido a mecanismos naturales de incompatibilidad que han favorecido su especiación. No obstante, el cruzamiento natural con otras variedades cultivadas de papa sería posible.

En todo caso, se estaría compartiendo un gene distanciado evolutivamente y que le conferiría un atributo de defensa a la bacteria, sin modificar en principio su capacidad de competencia.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen los comentarios de Alejandra Ferenczi-Asesora y Coordinadora Evaluación de Riesgo en Bioseguridad (ERB)- en los temas de Bioseguridad.

REFERENCIAS

Carroll, D., & Charo, R. A. (2015). The societal opportunities and challenges of genome editing. *Genome Biology*, 16(1), 242. <http://doi.org/10.1186/s13059-015-0812-0>

Czarnak-Kłos M. & Emilio Rodríguez-Cerezo (2010) European Coexistence Bureau (ECoB). Best Practice Documents for coexistence of genetically modified crops with conventional and organic farming – 1. Maize crop production.

FAO/OMS. (2000). Declaración de la FAO sobre biotecnología. Retrieved from <http://www.fao.org/biotech/fao-statement-on-biotechnology/es/>

García Préchac, F., Ernst, O., Arbeletche, P., Pérez Bidegain, M., Pritsch, C., Ferenczi, A., & Rivas, M. (2010). Intensificación agrícola: oportunidades y amenazas para un país productivo y natural. Montevideo: CSIC UdelaR.

González M, Galván G., Siri M., Borges A., Vilaró F. (2013). Resistencia a la marchitez bacteriana de la papa en *Solanum commersonii* Dun. *Agrociencia*, 17:45-54.

Huet, G. (2014). Breeding for resistances to *Ralstonia solanacearum*, 5 (December), 1–5. <http://doi.org/10.3389/fpls.2014.00715>

Jones, J. (2015). Domestication: Sweet! A naturally transgenic crop. *Nature Plants*, 1(6), 15077. <http://doi.org/10.1038/nplants.2015.77>

Kyndt, T., Quispe, D., Zhai, H., Jarret, R., Ghislain, M., Liu, Q., Kreuze, J. F. (2015). The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: An example of a naturally transgenic food crop. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18), 5844–5849. <http://doi.org/10.1073/pnas.1419685112>

Tamasi, O., Sammartino, R., Daniel, R., Acosta, N., & Velich, T. (n.d.). Alimentos obtenidos a partir de organismos genéticamente modificados (OGM). Retrieved from <http://www.anmat.gov.ar/alimentos/OGM.pdf>

Wolt, J.D., Keese, P., Raybould A., Fitzpatrick J.W., Burachik M., Gray A., Olin S.S., Schiemann J., Sears M., Wu F. (2010) Problem formulation in the environmental risk assessment for genetically modified plants. *Transgenic Res* (2010) 19:425–436.

EL BONIATO, EJEMPLO DE UN TRANSGÉNICO NATURAL

Las cepas bacterianas del género *Agrobacterium* tienen la capacidad de introducir ADN a células vegetales. Recientemente un estudio publicado en la revista PNAS (Kyndt *et al.*, 2015) reportó que durante o antes de la domesticación del boniato (*Ipomoea batatas*) el ADN derivado de *Agrobacterium* fue incorporado al genoma de este tubérculo. De hecho, se puede detectar una baja expresión de estos genes que de forma natural no afectan al normal desarrollo de la planta.

En algún momento durante su domesticación, probablemente hace miles de años en Latinoamérica, es posible que una variedad infectada por *Agrobacterium* resultara en un clon que mostró características interesantes y fue seleccionada por el hombre. Al ser propagada de forma clonal como raíz y subsecuentemente por reproducción sexual, estas características introgradadas por *Agrobacterium* se mantuvieron y pueden encontrarse aún hoy.

En cierto sentido, este proceso no es nuevo, la transferencia horizontal de genes es bien conocida como fuente evolutiva de diversidad génica, ocurre raramente, pero su resultado está ampliamente distribuido en la naturaleza (Adaptado de Jones, 2015).

