



La obtención de Plantas Transgénicas

Por: Ana M. Vázquez López Lomo*

La manipulación genética de las plantas es tan antigua como la propia Agricultura. Desde el comienzo de la misma el hombre ha intentado modificar las plantas que utiliza para dotarlas de características más ventajosas. Así han ido surgiendo, primero de forma intuitiva y posteriormente con técnicas de mayor complejidad lo que se denomina Mejora Genética. Estas características están definidas por el genotipo, el conjunto de los genes de un individuo y por lo tanto es éste el que se va modificando con la aplicación de estas técnicas. En muchas ocasiones no existe en la especie a mejorar el gen que confiera el carácter de interés, encontrándose éste sin embargo en otras especies. En este caso se realizan cruzamientos interespecíficos para incorporar al genoma de la especie que estamos mejoran-

do el gen o genes pertenecientes a otra, generalmente silvestre. De este modo el número de genes transferidos entre especies ha ido aumentando con el tiempo.

Actualmente disponemos de una nueva tecnología que permite la introducción de genes de una forma controlada, más eficaz y rápida que los procedimientos tradicionales de cruzamientos: la transformación. En este caso, el gen introducido puede pertene-

cer a cualquier especie, ya que el DNA es igual en todas ellas y una vez transferido se incorpora al genoma de la especie transformada comportándose como un gen propio. No existe por tanto la limitación de compatibilidad sexual que existe en el método tradicional en el que se tiene que obtener el híbrido interespecífico para transferir genes de la especie silvestre a la cultivada y esto no siempre se puede realizar. Mediante las técnicas de transformación es sin embargo posible incorporar genes de bacterias o del hombre a una planta.

Una planta transgénica es aquella que posee uno o varios genes introducidos por técnicas de transformación. Este gen ha de encontrarse en todas las células de la misma y expresarse y transmitirse de forma correcta.

Existen distintos métodos para la obtención de este tipo de plantas pero en todos los casos, con escasas excepciones, las técnicas

DOS TÉCNICAS DE
TRANSFORMACIÓN
DIFERENTE

INTRODUCIR UN
“GEN SELECTOR”

(*)Departamento de Genética. Facultad de Biología.
Univ. Complutense. Madrid



Se cortan hojas de caña de azúcar y se colocan sobre un medio de cultivo



A partir de las hojas se forma un callo (masa de células indiferenciadas con crecimiento tumoral)



Modificando el medio a partir del callo se regeneran plántulas



Cuando las plántulas alcanzan un desarrollo adecuado se pueden pasar a tierra

López Bilbao, Linácer y Vázquez

de transformación, introducción del gen, han de combinarse con el cultivo de tejidos.

EL CULTIVO DE TEJIDOS.

Las células vegetales cultivadas en condiciones asépticas sobre determinados medios que generalmente poseen entre sus componentes hormonas vegetales, pueden dividirse y mediante procesos mas o menos complejos originar plantas. Generalmente se cultivan órganos o fragmentos de los mismos que llamamos explantes. Estos pueden ser trozos de hojas o tallos, partes de la flor, embriones... Los procesos morfológicos pueden realizarse directamente sobre las células del explante de forma que estas se dividen de forma ordenada originando, por ejemplo, brotes en los que posteriormente se induce la formación de raíces obteniéndose la planta completa. En otras ocasiones las células del explante dividen desordenadamente dando lugar a una masa tumoral que recibe el nombre de callo. Estos callos cultivados sobre otros medios también pueden regenerar brotes que igualmente tras la formación de raíces originaran plantas. En algunos casos las células en cultivo, de forma directa o más frecuentemente a través de un callo, forman estructuras semejantes a los embriones presentes en la semilla que reciben el nombre de embriones somáticos. Estos pueden germinar y originar plantas completas. Por tanto esta técnica nos permite obtener plantas que se forman en muchos casos a partir de células únicas. Las aplicaciones del cultivo de tejidos son múltiples y entre otras, como vamos a ver, permite la obtención de plantas transgénicas.

LAS TÉCNICAS DE TRANSFORMACIÓN

En los vegetales existen diferentes técni-

cas de transformación, pero dos de ellas son las mas utilizadas: la transformación mediante el uso de Agrobacterium tumefaciens y el bombardeo con microproyectiles.

En el primer caso se utiliza el propio sistema de transferencia de DNA utilizado por la bacteria en el proceso normal de infección. Esta bacteria se encuentra en el suelo y provoca en las plantas que infecta un tumor que recibe el nombre de tumor de agalla del cuello o de la corona. *A. tumefaciens* posee un plásmido, pequeño cromosoma circular independiente del cromosoma bacteriano, llamado Ti. En este plásmido existe una zona, el DNA T que durante el proceso de infección pasa a la célula de la planta y se inserta en el DNA de su núcleo. Los genes que lleva este fragmento son los causantes de la aparición del tumor. La bacteria por tanto transforma las células de la planta. Se conoce que este proceso se realiza por la presencia de unas secuencias concretas que se localizan en los bordes del DNA T y se ha comprobado que cualquier DNA que se encuentre incluido dentro de esos "bordes", con independencia de su secuencia, será transportado a la planta que se infecta. Así, se sustituye el DNA bacteriano por el gen que se desea introducir en la planta, reemplazando al DNA T y manteniendo los bordes del mismo. Al realizar-

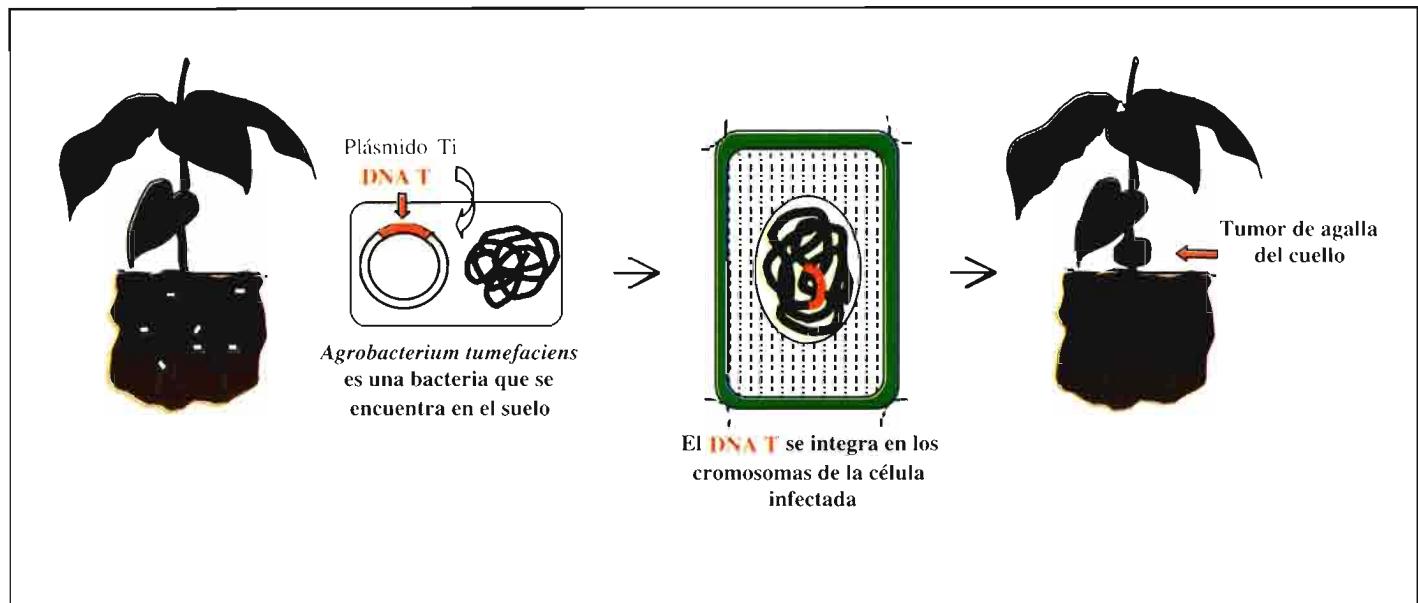
se la infección, la propia bacteria introducirá este DNA que posteriormente se integrará en algún punto de los cromosomas de la planta. Las células quedarán transformadas con el gen de interés.

En la técnica de bombardeo se "dispara" a las células a transformar con unos microproyectiles que son en realidad pequeñas esferas de oro o tungsteno recubiertas de DNA. Estos microproyectiles se sitúan sobre el macroproyectil, que sería la bala que se propulsa por el cañón. El disparo se efectúa mediante la expansión de gases, como el helio, a alta presión o descargas eléctricas. El macroproyectil impulsado se dirige con enorme velocidad hacia la boca del cañón pero no puede salir ya que esta se encuentra parcialmente bloqueada. La pequeña apertura del extremo del cañón permite sin embargo la salida de los microproyectiles que aun adquieren mayor velocidad al chocar el macroproyectil con el extremo bloqueado del cañón. Con esta "pistola" disparamos a las células que queremos transformar que se sitúan en el punto de salida de los microproyectiles. Al penetrar estos en la célula, debido a la fuerza del disparo, introducen el DNA con el que van recubiertos. Este posteriormente entrará en el núcleo y se incorporará en algún punto del cromosoma, quedando la célula transformada

ENSAJO DE NUEVAS TÉCNICAS QUE EVITARÍAN LA DISEMINACIÓN A TRAVÉS DEL POLEN

OBTENCIÓN DE LA PLANTA TRANSGÉNICA

Una vez transformadas las células es necesario conseguir la planta completa. Hemos indicado que con la técnica de cultivo de tejidos es posible obtener plantas a partir de células únicas. Si cultivamos las células transformadas y estas regeneran una planta habremos obtenido una planta



transgénica ya que todas las células de la misma llevaran el gen introducido. Hemos de tener en cuenta que cuando se realiza la transformación, por cualquiera de los métodos antes indicados, no todas las células reciben e incorporan el transgén (gen que se transfiere). Es decir si por ejemplo transformamos una hoja no todas las células de la misma quedan infectadas o reciben los microproyectiles. En el proceso de regeneración hemos de evitar que las células no transformadas regeneren ya que sino la posibilidad de obtención de la planta transgénica se vería enormemente dificultado. Para evitar esto se introduce junto con el gen, que dotará a la planta de las características deseadas, otro llamado "selector" que proporciona a la célula transformada la posibilidad de sobrevivir y regenerar en presencia de un agente selectivo. Por tanto se pueden cultivar los explantes que llevan algunas células transformadas sobre medios de cultivo en los que se añade el agente selectivo, por ejemplo un antibiótico o un herbicida, de acuerdo con el gen selector que se haya introducido. Bajo estas condiciones las únicas células capaces de sobrevivir serán las transformadas que al poseer el gen "selector" sintetizan la sustancia que les confiere la resistencia mientras que las demás mueren. Estas células podrán dividir y regenerar plantas.

LA EXPRESIÓN Y TRANSMISIÓN DEL TRANSGEN

Para que una transgénica sea útil ha de expresar y transmitir el transgén de forma correcta. La expresión de los genes viene

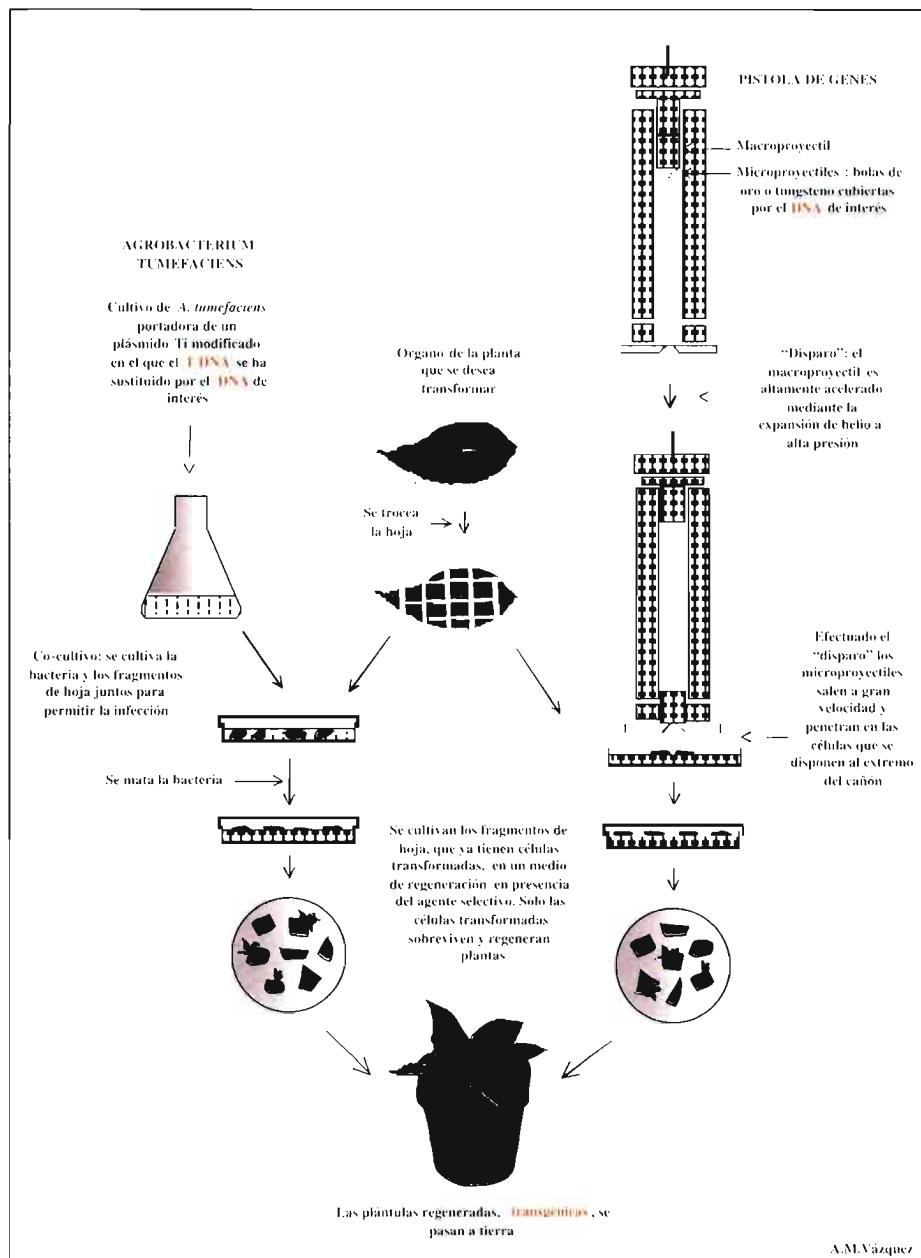
controlada por una secuencia que existe delante de la zona que determina la secuencia de aminoácidos de la proteína, es decir la zona codificadora, y que recibe el nombre de promotor. Los promotores de cada gen regulan la expresión del mismo tanto en el espacio como en el tiempo, siendo la transcripción uno de los pasos de mayor importancia en la regulación aunque no sea el único. De esta forma las proteínas aparecen en momentos concretos del desarrollo, en tejidos u órganos específicos o se induce su aparición bajo determinadas circunstancias. Para conseguir que los transgenes se expresen de la forma más conveniente se sitúan a continuación de los promotores adecuados y así por ejemplo se consigue que la

proteína para la que llevan información aparezca en las hojas, en las anteras o cuando la planta sufre un corte. El grado de expresión del transgén debe ser estudiado ya que dependiendo de varios factores como el número de transgenes presentes y el lugar donde se han insertado en el genoma por ejemplo la cantidad de proteína que aparece puede variar. Por tanto han de seleccionarse aquellas plantas transgénicas en que el nivel de la proteína sea el adecuado.

También se controla la transmisión del transgén a la descendencia ya que interesa que se comporte como cualquier otro gen de la planta. El estudio de varias generaciones y los cruzamientos pertinentes nos indican



Imagen de un ensayo de campo en Zamadueñas (Valadolid) con remolacha resistente a herbicida Roundup (glifosato) de bajo efecto residual. La aplicación del herbicida permite controlar las malas hierbas sin dañar los cultivos. El herbicida puede, además, aplicarse en cualquier momento del desarrollo de la planta, lo que permite realizar aplicaciones según las necesidades de cada año y lugar, y no de forma rutinaria, reducir la cantidad total aplicada. (Foto Monsanto)



De: "Australian Biotechnology"

si la transmisión es correcta. De esta forma de nuevo se selecciona aquellas plantas transgénicas que no presenten problemas.

LAS TRANSGÉNICAS DEL FUTURO

Son varios los aspectos que deberíamos nombrar. En primer lugar es necesario disponer de un mayor número de genes que nos permitan abordar la obtención de plantas que resuelvan determinados problemas con los que se enfrenta la agricultura, ya que en muchas ocasiones desconocemos que genes son los adecuados. Uno de los mayores retos lo encontramos cuando el carácter que deseamos controlar esta determinado por más de un gen, es decir existen productos en cuya síntesis esta implicada una ruta metabólica mas o menos complejas. La planta transgénica debe ser portadora por tanto de varios transgenes que controlen dicha ruta. Igualmente el descubrimiento de nuevos promotores permitirá una expresión aun más adecuada y precisa de los genes introducidos.

La necesidad de incorporación de genes selectores en el proceso de obtención de las plantas transgénicas ha planteado numerosos problemas de aceptación por parte del público de estas plantas, esencialmente en los casos en que estos genes confieren resistencia a antibióticos. Sin que entremos a discutir la alarma injustificada que esto supone, en la actualidad se investiga para conseguir que el DNA introducido sea el mínimo y para conseguir que los genes selectores necesarios para llevar a cabo la transformación sean eliminados posteriormente de forma que no estén presentes en la planta mas que durante las primeras etapas de su desarrollo.

Por último podemos también comentar que se está tratando de incorporar los transgenes en el DNA de los orgánulos celulares en lugar de en el núcleo. En la mayoría de las plantas las mitocondrias y los cloroplastos no se transmiten a la descendencia a través del polen ya que en el proceso de fecundación no pasan a la ovocélula siendo la transmisión de estos orgánulos solo materna. De esta forma se trata de evitar la posible diseminación de los transgenes a través del polen ya que así aunque una planta fuera fecundada con polen perteneciente a una transgénica el gen foráneo no pasaría a ella.