

■ Biotecnología



Biotecnologías

Actualidad de una práctica milenaria

Dr. Ing. Agr. Atilio Pedro Castagnaro

Jefe de Sección Biotecnología, EEAOC.

Descontaminación, antipirético, riego, antibiótico, célula, injerto, cromosoma, palabras todas ellas con una ya larga historia; y otras de más reciente generación, como hibridación y transgénesis, podrían convivir en un mismo diccionario de una práctica designable por otra palabra tan actual y tan de moda como biotecnología. ¿Es eso posible? ¿Qué es, en realidad, la biotecnología?

El término biotecnología se utiliza habitualmente en referencia a las técnicas de manipulación del ADN celular en un tubo de ensayo y a sus productos o servicios derivados; en realidad se trata de algo mucho más amplio e incluso, si se quiere, más común, como la propia agronomía que es, en sí misma, una biotecnología. Una cosa sería entonces la biotecnología molecular o la ingeniería genética –en referencia a un campo más restringido o específico- y otra distinta la biotecnología, que se encuentra implícita en cualquier actividad que suponga la intervención voluntaria

en un proceso biológico, con el objeto de producir un bien para la humanidad. En un sentido amplio, cualquier tecnología que implique un proceso biológico beneficioso para la humanidad –como la medicina, por ejemplo- es en realidad una biotecnología.

El tratamiento de la salud humana, la descontaminación ambiental o la producción y multiplicación de alimentos son, en sí, procesos biotecnológicos. La misma agricultura es un proceso biotecnológico por definición y ha sido, dicho sea de paso, la tecnología que ha permitido la



conformación de las sociedades; quizá, exagerando un poco, sea ella el origen de las demás ciencias: la domesticación de los cultivos para la alimentación y la producción de excedentes para el acopio obraron como epicentro de la vida en comunidad; podría decirse, por eso, que la agricultura precedió a la filosofía, quizá a la astronomía y, por la necesidad de contar con conocimientos aplicables y resultados calculables, también a las demás ciencias. Puede decirse, entonces, que las biotecnologías existen en realidad desde hace muchísimo tiempo.

■ La visión biológica

Esa mirada más amplia es hoy cada vez más necesaria, porque el análisis sistémico ensancha las potencialidades de avanzar en el conocimiento de las ciencias biológicas, las cuales han ganado notablemente en profundidad. Es cierto que el descubrimiento de la estructura del ADN, a mediados del siglo XX, fue un hito de gran relevancia. Pero la genética -la preocupación por el funcionamiento de la herencia, por un lado, y el de la célula como marco general de investigación, por el otro- ya era objeto del interés científico

y gracias a eso se llegó a conocer la estructura del ADN, que es la molécula de la herencia. Conocer esta estructura permitió entender los mecanismos químicos de la herencia y utilizar este conocimiento para, por ejemplo, reprogramar genes (ingeniería genética) y producir proteínas de interés como la insulina (salud humana); sirvió también para entender el comportamiento poblacional de microorganismos (benéficos y patógenos), plagas y/o cultivos vegetales y poder así manejar mejor esas poblaciones en beneficio de los seres humanos; todo esto no es otra cosa que producir tecnología, es decir, biotecnología. En definitiva, con este descubrimiento de la estructura química del ADN nació lo que se conoce como biología molecular, cuya proyección es mucho más amplia que la manipulación genética, integrando aspectos vinculados con los problemas ambientales y el tratamiento del agua, entre otros. Son todos servicios útiles para la mejora de las condiciones de vida sobre el planeta, pero también sirven para conocer más y, de ese modo, retroalimentar y lanzar el sistema “avance en el conocimiento-producción tecnológica” al progreso continuo.

En la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EAAOC) preferimos hablar de la biotecnología de la producción agroalimentaria en general, entendiéndola como una instancia más de la propia agronomía. En síntesis, se trata de la utilización del conocimiento molecular de la vida para el desarrollo de herramientas y tecnologías que contribuyan a la mejora de los recursos y una práctica agronómica más efectiva y sustentable. Esa mirada más amplia ha abierto innumerables

caminos verdaderamente bio-agro-tecnológicos.

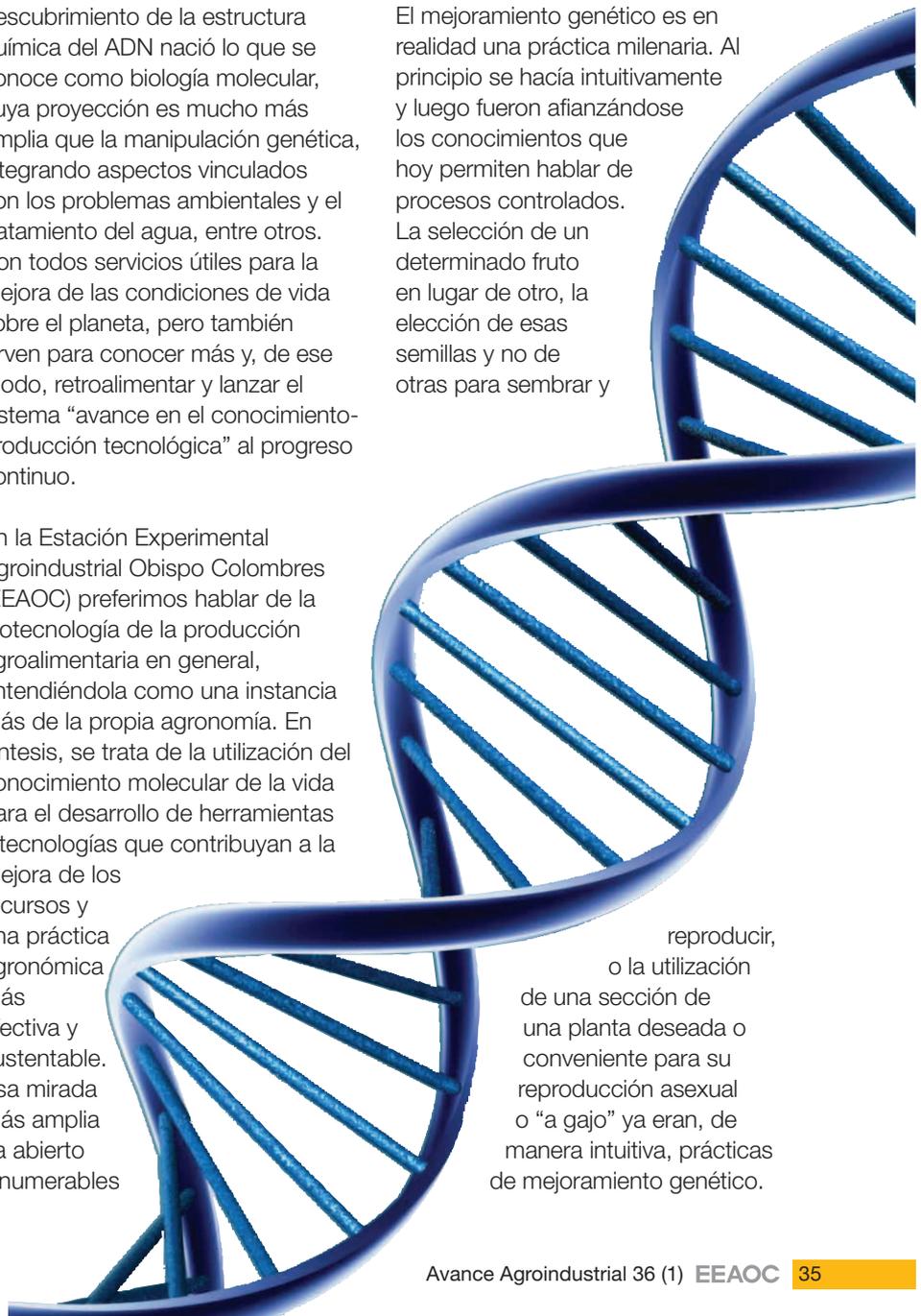
■ Aplicaciones

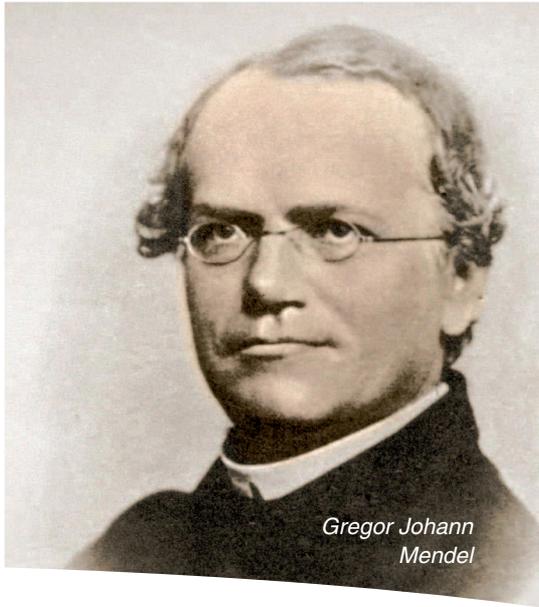
■ Mejoramiento genético

La aplicación más conocida de la biotecnología ha sido, hasta ahora, la del mejoramiento genético de las especies vegetales cultivables. Eso puede hoy hacerse mediante lo que se conoce como “mejoramiento genético convencional” o a través de procesos denominados transgénesis. La biología molecular tiene para ambas opciones mucho que aportar.

El mejoramiento genético es en realidad una práctica milenaria. Al principio se hacía intuitivamente y luego fueron afianzándose los conocimientos que hoy permiten hablar de procesos controlados. La selección de un determinado fruto en lugar de otro, la elección de esas semillas y no de otras para sembrar y

reproducir, o la utilización de una sección de una planta deseada o conveniente para su reproducción asexual o “a gajo” ya eran, de manera intuitiva, prácticas de mejoramiento genético.





A partir de las leyes de Mendel (mediados del siglo XIX) comenzó a entenderse mejor y de una manera más sistemática y confiable -es decir, predictiva- cómo se heredan ciertos rasgos (genéticos). Valga recordar que esas investigaciones de Mendel se basaron en la observación de lo que ocurría con sus arvejas en el jardín de un monasterio.

Esos descubrimientos dieron mayor fortaleza a la práctica de lo que se conoce como mejoramiento genético convencional, basado en el cruzamiento sexual de las variedades cuyas virtudes se pretenden combinar. El descubrimiento del ADN a mediados del siglo XX permitió profundizar el conocimiento de los procesos celulares que intervienen en el mecanismo bioquímico de la herencia y otras actividades intracelulares. Ahí es cuando nació la biología molecular y con ella, surgieron las biotecnologías moleculares. Con estas biotecnologías hoy es posible tanto perfeccionar las técnicas de mejoramiento convencional como operar directamente en la estructura genética de una semilla o planta. Esto se conoce como transgénesis y consiste en identificar un gen útil en un determinado organismo, cortarlo, incluirlo en la estructura del ADN de una planta receptora

y, así, encontrarlo presente y operante en la descendencia de esa "nueva variedad transgénica". El ejemplo más conocido es el de la soja transgénica, a la que se le ha introducido en su ADN un gen que la hace resistente al producto que, a la vez, eliminará las malezas que compitan con la soja en el mismo territorio.

Pero hay otros modos de intervenir favorablemente en la obtención de variedades mejoradas, conocidos como procesos de mejoramiento genético convencional; se basan en el cruzamiento sexual de variedades de la misma especie, según sus

otro lado, encontramos que otra variedad (R) de la misma especie posee mayor resistencia a la misma enfermedad, aunque no las otras virtudes. Sabemos que esas propiedades de las plantas residen en genes determinados y que, por lo tanto, son heredables. Sabemos además que, mediante cruzamientos sexuales entre plantas de ambas variedades, podemos llegar a obtener ejemplares que posean todas las cualidades deseadas de V y hayan incorporado la de R. Dadas las leyes de la herencia (en este caso lo que se conoce como "crossing over"), no todos los ejemplares resultantes de ese cruzamiento poseerán el



cualidades productivas, hasta la obtención de una descendencia que presenta la combinación heredable de las características más buscadas. La utilización de los marcadores moleculares, diseñados para señalar el lugar que ocupa un determinado gen en la cadena de ADN en la que se encuentra, permite controlar y acelerar el proceso de selección de la descendencia de estos cruzamientos.

Supongamos que una variedad (V) de una especie cualquiera posee cualidades productivas suficientes como para ser considerada promisorias (precocidad, rendimiento, porte, etc.), pero es todavía demasiado sensible a una determinada enfermedad. Por

gen especial de la planta donante (R). Algunos ejemplares de la descendencia lo habrán heredado, otros no. Mediante los marcadores moleculares se identifican entonces los ejemplares que sí lo poseen, y eso permite seleccionarlos para volver a cruzarlos con la receptora (V). El proceso de marcación, identificación y selección se repite hasta la obtención de una variedad que en un 100% de los casos tenga todas las virtudes de V y, a la vez, replique hereditariamente ese gen de R. El límite de esta tecnología -cuya bondad reside esencialmente en que no hay que pasar por un proceso de desregulación muy costoso y largo- está en que obliga a trabajar con especies que pueden cruzarse entre sí y dar descendencia fértil.

■ Patógenos

Otra aplicación muy importante es la utilización de estos marcadores para estudiar los patógenos que afectan a un determinado cultivo, diagnosticarlos y ver cómo varían sus poblaciones en función del genotipo de la variedad de la planta que esté siendo atacada. Ese estudio, llamado poblacional, consiste en marcar los genes del patógeno responsables de una conducta de efectos dañinos y entender cómo va moviéndose su genética en interacción con la planta de mi interés.

Imaginemos una planta atacada y dañada por una determinada especie de insecto. No todos los ejemplares de esa población de insectos que llegan a la planta tienen exactamente el mismo ADN, es decir un ADN compuesto por los mismos genes. Algunos de esos bichitos pueden ser portadores de uno o más genes que los hacen agresivos o perjudiciales para la planta, y otros no; y tampoco será igual su comportamiento respecto de otras plantas. La composición de los individuos de esa población de insectos es heterogénea y va cambiando en función del genotipo o la variedad de cada planta en cuestión y de las condiciones ecológicas en las que tiene lugar la interacción. La identificación por marcación molecular de ese comportamiento genético permite

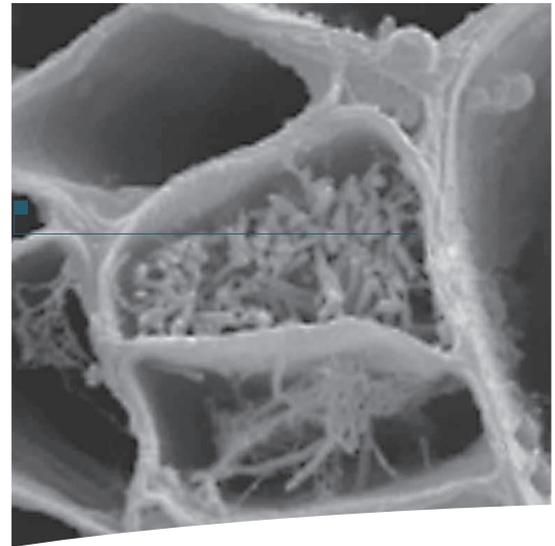
conocer específicamente cuáles son los individuos o genotipos del insecto que está interactuando y ver cómo es su comportamiento poblacional. Esto posibilita, a la vez, generar estrategias agronómicas que hagan más fácil contrarrestar los efectos negativos de una plaga o enfermedad en un determinado cultivo.

■ Bio-insumos. Inductores

El estudio de la interacción entre patógenos y plantas basado en las características genéticas de ambos, que permite diagnosticar y establecer estrategias favorables al cultivo, puede dar lugar también al reconocimiento de algunos de los genes, sustancias o moléculas del patógeno que producen un incremento de las defensas de la planta en contra de este. A partir de ese concepto, se desarrollan bio-insumos para reemplazar a los pesticidas convencionales procedentes de la química del petróleo. Estos bio-insumos no actúan como veneno, sino como estimuladores de procesos en la planta que evitan que esos organismos se reproduzcan o crezcan a sus expensas.

Basándonos en los mismos principios, hoy es posible generar distintos tipos de bioproductos o “bio-inductores” aptos para mejorar otras funciones, como la nutrición o el crecimiento. Hay microorganismos,

genes o moléculas que se utilizan incluso con un doble efecto: por ejemplo, la inducción de la



respuesta de defensa y la estimulación del crecimiento vegetal.

■ Interactoma

Los ejemplos anteriores se basan todos en el uso apropiado de la interacción de una molécula o un microorganismo con un genotipo o variedad; pero hoy, a partir del mismo conocimiento, es posible concebir procesos que tengan en cuenta no un solo tipo, sino el conjunto de los microorganismos que interactúan normalmente con la variedad o genotipo de planta. Como se sabe, las plantas e incluso los seres humanos convivimos con una enorme cantidad de microorganismos –nuestro microbioma– que, en su mayoría, contribuyen al desarrollo de la vida. Todos presentan características particulares de acuerdo al ambiente ecológico en el que se desarrolla esa sociedad. Basta pensar en que las bacterias presentes en nuestra mano izquierda no son idénticas a las de nuestra mano derecha y esto varía en función del uso rutinario que les damos a ambas manos. A esa comunidad de organismos, convivientes en un mismo ambiente ecológico y que interactúan con un determinado genotipo, variedad



Producción de plantines saneados de caña de azúcar en laboratorio*

La obtención de plantines de caña de azúcar saneados y con pureza genética (vitroplantas) en laboratorio (micropropagación *in vitro*) es el primer eslabón de un proceso que tiene como finalidad la obtención de “caña semilla” de alta calidad, la cual se utiliza para el establecimiento de núcleos semilleros a campo.

Entre las técnicas de cultivo de tejidos, la micropropagación a partir de “meristemas” apicales de caña de azúcar es la técnica utilizada en nuestro laboratorio. Los meristemas son un grupo de células indiferenciadas que se

encuentran en continua división en los ápices de crecimiento. Al utilizar meristemas como explanto inicial se favorece la erradicación de virus y otros patógenos, logrando la producción de plantas sanas. Otra de las ventajas de este sistema es el mantenimiento de la identidad del genotipo regenerado, ya que las células meristemáticas mantienen más uniformemente su estabilidad genética. La micropropagación *in vitro* permite la obtención de un gran número de plantas idénticas entre sí en un espacio relativamente reducido (laboratorio).

Con respecto a las variedades que se propagan, estas surgen a partir de la demanda del sector productivo, a la vez que la EEAOC introduce regularmente al sistema de micropropagación *in vitro* los nuevos genotipos que surgen del Programa de Mejoramiento Genético de Caña de Azúcar (PMGCA) de la institución. De esta manera se busca difundir las nuevas variedades, con lo cual se contribuye a la diversificación varietal de los cañaverales.

El proceso de micropropagación consta de las siguientes etapas:

*Ing. Agr. Aldo S. Noguera. Sección Biotecnología, EEAOC.

■ Etapa 0

Preparación de plantas “madre” donadoras de meristemas

El establecimiento de la planta madre se realiza a partir de estacas uninodales, las cuales se someten a un tratamiento de hidrotermoterapia, a fin de controlar de manera eficiente los patógenos bacterianos. De estas plantas se extraen los meristemas para iniciar el proceso.



■ Etapa 1

Establecimiento del cultivo axénico

Consiste en la implantación de los meristemas en un medio de cultivo artificial con la finalidad de promover el desarrollo de un brote, a partir del cual se generará una “línea” de cultivo (plantas originadas de un mismo meristema). Todo el material que constituye una línea debe poseer idéntica denominación, a fin de mantener la trazabilidad del proceso.



■ Etapa 2

Multiplicación de brotes

En esta etapa se induce la proliferación masiva de nuevos brotes a partir del brote originado del meristema implantado anteriormente. Se utilizan medios de cultivo que promueven el macollaje y los brotes se subdividen periódicamente, a fin de incrementar la cantidad de plantas.



■ Etapa 3

Enraizamiento

Al final del proceso de multiplicación y a medida que los brotes alcanzan un desarrollo adecuado, se induce la formación de raíces en un medio de cultivo apropiado. El desarrollo de un buen sistema radicular es fundamental para lograr una buena adaptación de las plantas a las condiciones *ex vitro* (invernadero).

■ Etapa 4

Aclimatación

Consiste en la adaptación gradual de las plantas producidas *in vitro* a las condiciones ambientales de cultivo en invernadero. Las plantas enraizadas se colocan en bandejas con sustrato desinfectado y se mantienen en invernadero durante tres a cinco meses para su crecimiento y rusticación. Esta etapa

se lleva a cabo en el invernadero del Subprograma Mejoramiento de la Caña de Azúcar de la EEAOC.



o cultivar de planta, se la conoce hoy como interactoma. Es decir que el comportamiento y rendimiento de una variedad de un cultivo es resultado de la interacción con su microbioma asociado, en un ambiente determinado.

La diversidad es enorme y en general, como dije, se trata de interacciones necesarias e imprescindibles para la vida. Sin embargo, cuando en ese ambiente donde se da la interacción se produce un desequilibrio ecológico, algunos microorganismos pueden causar enfermedad, pero esa variación o reacción es diferente según el hospedero, la variedad o el genotipo de planta de que se trate. Este es un concepto clave, y no solamente en agronomía, al punto de que en medicina el microbioma está siendo considerado como un órgano más.

Cuando hablamos de interactoma, hacemos referencia a muchos microorganismos interactuando con el genotipo (en nuestro caso, una variedad determinada de planta) que nos interesa preservar y mejorar. El entendimiento y el manejo de ese interactoma, que no es otra cosa que un manejo genético, puede

constituirse en una tecnología muy interesante para producir genotipos o cultivares más productivos y con mayor adaptabilidad a las condiciones agro-ecológicas de su cultivo. En otras palabras: conociendo el interactoma, el mundo microbiano y las condiciones de su convivencia con la planta, puede programarse su mejora genética para obtener el mayor provecho posible de esa interacción.

Intervención humana y sustentabilidad

Todo proceso biológico es un fenómeno natural, es cierto, pero también lo es que toda intervención humana en estos procesos altera necesariamente su carácter puramente natural. La sola domesticación de un cultivo determinado afecta su naturaleza, aun en el caso de las plantaciones llamadas orgánicas. Todas suponen la aplicación de alguna tecnología y la orientación de los fenómenos naturales en la dirección de un efecto buscado para la conveniencia humana. Y es legítimo suponer que cualquier alteración del curso espontáneo de la naturaleza conlleva algún tipo de daño ambiental. Basta

pensar que si digo “en este lote de 10 por 10 voy a cultivar solo lechuga” estoy alterando, en una pequeña escala, la biodiversidad. Imaginemos luego lo que ocurre ante la necesidad alimentaria de recurrir a cultivos en grandes extensiones y de protegerlos de sus antagonistas naturales a fuerza de productos artificialmente creados para controlarlos; mucho más si esos productos son sintéticos, tóxicos, muy poco biodegradables y provienen de la química del petróleo.

De lo que se trata entonces es de desarrollar tecnologías más limpias y, si se quiere, curativas del daño producido por las anteriores. El desafío consiste en disminuir ese daño “inevitable” y reducirlo gradualmente, utilizando mejor las propias fuerzas de la naturaleza y los enormes recursos biológicos encerrados en las propias capacidades naturales de los diferentes actores bióticos. Se trata de producir más y mejor con el menor costo económico y ambiental posible, incluyendo prioritariamente en este último el aspecto social. En esto consiste básicamente el desafío biotecnológico de la necesaria sustentabilidad.

Evaluación de la calidad fitosanitaria y la pureza genética

Durante la etapa de laboratorio, las vitroplantas son evaluadas mediante técnicas moleculares para garantizar que estén libres de patógenos. Este análisis, que se realiza en el primer sub-cultivo de la etapa de multiplicación (Etapa 2), permite determinar la presencia de los patógenos sistémicos de mayor incidencia en el cultivo de caña de azúcar. Los patógenos

evaluados son: raquitismo de la caña soca (*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*), escaldadura de la hoja (*Xanthomonas albilineans*), mosaico de la caña de azúcar (*Sugarcane mosaic virus*), mosaico del sorgo (*Sorghum mosaic virus*) y virus del amarillamiento de la hoja (*Sugarcane yellow leaf virus*). Por otro lado, se realiza también la evaluación de la variación somaclonal; es decir, se determinan los posibles cambios o alteraciones genéticas que pueden presentar las vitroplantas

respecto del genotipo original. Este análisis se lleva a cabo durante la etapa de aclimatación (Etapa 4).

Ambos análisis (sanitario y evaluación somaclonal) fueron optimizados en la Sección Biotecnología de la EEAOC y se incorporaron al esquema de producción anual, sistemático y rutinario de vitroplantas, lo cual permitió optimizar la calidad de los plantines que salen del laboratorio.