

# La biotecnología y su aplicación en la agricultura

*Los mejoradores de plantas clásicos se han mostrado escépticos sobre la importancia real de la biotecnología en la producción agrícola, mientras que los jóvenes ingenieros genéticos han subestimado a aquéllos por demasiado conservadores. Sin embargo, la biotecnología tiene un gran potencial en la manipulación de caracteres monogénicos o en aquellos poligénicos en que una gran parte de la variabilidad (70-90 por 100) se deba a uno o unos pocos genes.*

*Además puede acortar el tiempo de obtención de nuevas variedades al evitar retrocruzamientos. Su impacto está siendo enorme en el conocimiento de la estructura de los genes susceptibles de ser manipulados y en la ampliación de la variabilidad disponible para la mejora genética.*

---

P I L A R C A R B O N E R O Z A L D U E G U I \*

---

**A**ntes de iniciar cualquier descripción sobre el impacto de la nueva tecnología del DNA recombinante sobre la producción agrícola conviene recordar que la agricultura en la actualidad es una actividad enormemente exitosa, con incrementos en los rendimientos de las principales cosechas verdaderamente espectaculares en las últimas décadas (250 por 100 en maíz entre 1940 y 1980 en U. S. A.) y con excedentes de casi todo en el llamado mundo desarrollado. Los precios de los productos agrícolas son bajos y las ganancias de los agricultores en el futuro habrán de venir tanto de un aumento del rendimiento como de nuevos productos de mayor precio.

En relación con el aumento del rendimiento, y para abaratar costos de producción, no hay que olvidar que los gastos en pesticidas y herbicidas constituyen una parte importante de aquéllos y que su uso/abuso puede dañar seriamente al ecosistema. En relación con los productos de mayor precio, la obtención de sustancias de interés farmacológico e industrial cobra cada día mayor importancia.

## **Plantas resistentes a insectos por ingeniería genética**

La toxina producida por la bacteria *Bacillus thuringiensis* es un potente insecticida de naturaleza

proteica, fácilmente degradable en el medio ambiente y autorizada su comercialización desde principios de la década de los sesenta. Solamente en USA las ventas de este producto rondan los 60 millones de dólares, y la extensión de su uso ha venido restringida por su elevado coste, que ha de aplicarse a dosis de alrededor de 10 gr/ha. Sin embargo, su toxicidad es alta frente a numerosos insectos fitófagos como la *Manduca sexta*, para el que la dosis letal 50 es de 200 µg por gramo de peso fresco de larva. Distintas cepas de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) producen endotoxinas con distintas especificidades frente a lepidópteros, coleópteros y dípteros. En el grupo de los lepidópteros se encuentran muchas de las plagas importantes como la ya mencionada *Manduca sexta*. Entre los coleópteros no se puede dejar de mencionar el escarabajo de la patata (*Leptinotarsa decemlineata*), y entre los dípteros, la Organización Mundial de la Salud está especialmente interesada en la lucha contra el mosquito Anófeles, transmisor de la malaria.

Dada la naturaleza proteica de la toxina de *Bt*, desde el inicio de la introducción de las técnicas de transformación en plantas fue un objetivo claro para laboratorios tanto públicos como de compañías privadas (Monsanto, Plant Genetics Systems, etc.) el introducir y expresar el gen correspondiente en plantas cultivadas. Este era demasiado largo (proteína con más de 1.000 aminoácidos) y fue acortado hasta quedarse

con el fragmento que seguía manteniendo actividad insecticida. Después, previa colocación de un promotor de plantas, se insertó en un vector apropiado y se transformó en primer lugar tabaco y otras dicotiledóneas donde se llegó a expresar a niveles de la dosis letal 100 para insectos.

Hoy en día, en que ya se ha logrado la transformación de plantas monocotiledóneas como el maíz, el ataque frente a insectos que viven en el suelo y se alimentan de su raíz, o los que hacen galerías en su tallo donde se guarecen y alimentan, y que tradicionalmente escapaban a los tratamientos con insecticidas químicos, es perfectamente factible por ingeniería genética.

Otro grupo potencial de genes útiles en la lucha contra insectos son los inhibidores de hidrolasas (proteasas/ $\alpha$ -amilasas), que son abundantes en los granos de cereales y leguminosas, donde pueden tener una función de protección frente a predadores. Nuestro grupo viene dedicando una parte importante de su esfuerzo investigador al estudio de una familia multigénica de inhibidores de  $\alpha$ -amilasa/tripsina del endospermo de trigo y cebada, su clonación y obtención de plantas transgénicas, siendo los primeros resultados de inhibición de insectos fitófagos francamente alentadores (tabla 1).

A pesar de que desde el punto de vista de protección del medio ambiente la obtención de plantas

**Tabla 1**

**Bioensayo de los discos foliares frente al insecto**

***Agrotis ipsilon***

<b>Dieta</b>	<b>%Mortandad (L1-L3)</b>
<b>Tabacos transgenicos</b>	
<b>Inhibidor Tripsina Cebada (CMe)</b>	
planta n.º 2	22,6
planta n.º 3	62,8**
planta n.º 4	52,5**
planta n.º 6	30,0**
<b>Inhibidor <math>\alpha</math>-amilasa Trigo (0.28)</b>	
planta n.º 6	72,7**
planta n.º 8	17,4
planta n.º 9	30,3**
planta n.º 12	65,7**
<b>Controles</b>	
Tabaco sin transformar	15,0
Dieta artificial	14,5

L1 = estadio larvario 1; L3 = estadio larvario 3

transgénicas que produzcan sus propios insecticidas posee un interés obvio, a veces se argumenta que el empleo generalizado de estas técnicas favorecerá la aparición de resistencias. Para dificultarlo ya está en marcha la obtención de plantas doblemente transgénicas para la toxina de *Bt* y para un inhibidor de proteasas, con lo que además parece producirse un efecto sinérgico. Otra vía de actuación reside en la utilización de promotores inducibles por herida, lo que ocasionaría que la proteína insecticida sólo se produjera si hubiera daño mecánico previo.

**Plantas cultivadas resistentes a herbicidas**

Este tipo de investigaciones en el que las compañías están muy interesadas, ya que así venden al agricultor la semilla a cultivar (resistente) y el herbicida que ha de aplicar a sus campos, ha sufrido un ataque frontal por parte de los ecologistas, que en ciertos países han hecho clausurar los programas correspondientes.

Como premisa previa hay que empezar conociendo cuál es el mecanismo de acción del herbicida cuya resistencia se quiere transferir a una planta cultivada

**Tabla 2**

**Mecanismo de acción de algunos herbicidas comerciales**

<b>Producto</b>	<b>Ruta Metabólica</b>	<b>Enzima inhibido</b>
Glyphosate (Round-up) MONSANTO	Biosíntesis AAs * aromáticos	5-enol-piruvil-P shikimato sintasa
Sulfometuron (Oust) chlorsulfuron (Glean) DUPONT	Biosíntesis AAs * ramificados	Acetolactato sintasa
Phosphinothricin (Basta) HOECHST	Biosíntesis Glutamina	Glutamina sintasa

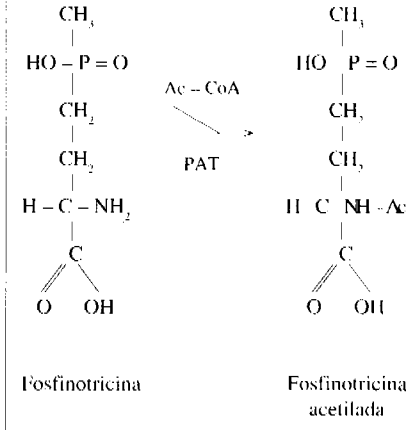
\*AAs = Aminoácidos

(tabla 2). Una vez conocido el enzima inhibido por el herbicida, la resistencia se puede obtener bien sobreexpresando el enzima diana, mutando el enzima diana *sin* alterar sus propiedades catalíticas, o inactivando el herbicida.

A modo de ejemplo, citaré cómo en la obtención de plantas resistentes a fosfinitricina (BASTA) se ha seguido inactivando el herbicida.

Este herbicida es un inhibidor irreversible de la glutamina sintetasa (GS), enzima que en plantas tiene

un papel clave en la asimilación del amonio. El maíz es de un modo natural resistente a él, ya que posee un



enzima acetilante que lo inactiva. Otras plantas de gran cultivo son sensibles, ya que carecen de este mecanismo detoxificante. El gen fosfinitricina acetil transferasa (PAT)

también se encuentra en ciertas bacterias como *Streptomyces hygroscopicus*. Por su mayor simplicidad, el gen se ha aislado a partir de esta bacteria previa manipulación *in vitro* para ponerle un promotor que funcione en plantas, se ha transformado tabaco, patata, tomate, alfalfa, etc., habiéndose obtenido así resistencia frente a este herbicida.

### Péptidos de interés farmacológico en semillas vegetales

Las semillas de las plantas superiores almacenan grandes cantidades de proteínas de reserva que sirven de nutriente para la plántula durante la germinación y se almacenan en vacuolas especializadas denominadas cuerpos proteicos. La mayoría de estas proteínas carecen de actividad enzimática y podrían ser dianas apropiadas para insertar péptidos bioactivos de pequeño tamaño. Además, casi todas estas proteínas están codificadas por familias multigénicas y su expresión está estrictamente regulada en el tiempo y en un tejido concreto.

Las albúminas 2S constituyen una de las familias proteicas de reserva más pequeñas que se conocen (dos subunidades de 9.000 y 3.000 kDalton unidas por puentes disulfuro), con zonas muy conservadas y otras más variables. En el grupo del profesor M. van Montagu, en Gante, se ha modificado una de estas regiones variables y se ha sustituido parte de ella por la secuencia codificante del neuropéptido de cinco aminoácidos Leu-enkefalina flanqueado por secuencias que permiten su hidrólisis por tripsina. La ventaja de producir un péptido de este tipo fusionado a una proteína de reserva reside en la posibilidad de producir grandes cantidades del mismo en una forma fácilmente extraíble: solubilización salina seguida de hidrólisis triptica.

Si bien producir de un modo análogo péptidos bioactivos mayores (p. ej., hormona del crecimiento,

insulina, etc.) plantea problemas importantes que habrá que ir resolviendo en cada caso concreto, éste sería un modo de aumentar el valor añadido a las maltrechas economías agrarias. También la modificación de la composición de aminoácidos de las proteínas de reserva en la línea que acabamos de describir podría aumentar la calidad nutritiva (aumento del contenido en metionina en leguminosas y de lisina en cereales p. ej.) y mejorar la dieta de personas que en los países en desarrollo dependen de un cereal base para su sustento.

### La producción de metabolitos secundarios

El crecimiento de células o tejidos vegetales en grandes biorreactores ha sido considerado como una vía ideal de producir a gran escala metabolitos secundarios de interés farmacológico o industrial. Este campo está sufriendo una gran evolución, y productos como shikonin están ya siendo comercializados por esta vía. Otros aspectos prometedores son la producción de aromas y sabores para la industria alimentaria y perfumería, producción de alcaloides, etc.

A modo de conclusiones, a la vista de los pocos ejemplos que hemos mencionado en este artículo, se ve que la biotecnología puede tener consecuencias enormes en la producción agrícola, y en este sentido no hay que olvidar que las primeras plantas transgénicas se produjeron sólo en 1983. Hoy, a pesar de los avances, la producción de plantas transgénicas de cosechas tan importantes como los cereales (trigo, arroz, maíz) y las leguminosas de grano no es algo tan rutinario, como ocurre con las dicotiledóneas (tabaco, patata, tomate, etc.). A optimizar la transformación de aquéllas se están dedicando grandes esfuerzos tanto por laboratorios públicos como privados. Tampoco hay que perder de vista la enorme contribución al conocimiento básico de los genes y al aumento de la variabilidad disponible que estas técnicas han proporcionado. En la actualidad, un gen de interés para el mejorador se puede obtener de cualquier organismo (p. ej., bacterias, hongos, etc.), no confinándose como hasta ahora sólo a aquellos de especies cruzables por vía sexual.

La biotecnología en un futuro próximo complementará, pero no eliminará la mejora genética tradicional. Una interacción y colaboración estrecha entre biotecnólogos y mejoradores será esencial en la transferencia de resultados desde el laboratorio hasta el campo.

\* Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular (ETS de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid) y jefe del Área de Biología Molecular de Plantas (Centro Nacional de Biotecnología).