

# LA INGENIERÍA DE LA VIDA



**Andrés Zurita S.**  
Ingeniero Agrónomo, Tesista M. Cs.

**Ana Gutiérrez M.**  
Bióloga, Ph. D.

**Manuel Gidekel B.**  
Ingeniero Agrónomo, Ph. D.  
mgidekel@carillanca.inia.cl

INIA Carillanca

La posibilidad de hacer ingeniería sobre procesos biológicos de los seres vivos abre enormes posibilidades no sólo para la agricultura, sino también para fines tan distintos como vacunas comestibles, la lucha contra la contaminación y hasta para la industria del plástico.

**A** inicios de los ochenta, tras siglos de mejorar plantas de cultivo y animales domésticos en forma tradicional, es decir a través del mejoramiento de caracteres de interés, los investigadores agrícolas dieron un gran paso. Decidieron potenciar el mejoramiento convencional con el uso de herramientas de biología molecular, para introducir genes dentro de plantas y animales para caracteres deseados. Este salto fue la culminación de un largo proceso multidisciplinario, cimentado en trabajos de Watson y Crick (1953), quie-

nes describieron la naturaleza química de los genes, con la estructura del ácido desoxirribonucleico (ADN).

El ADN es la “impresión fotográfica” o molde, que contiene las instrucciones para la creación de todos los organismos vivos. Basados en éste y otros hallazgos, en 1973 se desarrolló una nueva disciplina biotecnológica que permitió a los investigadores trasladar genes desde un organismo e insertarlos dentro de otro. La técnica de inserción de genes, conocida como modificación genética o ingeniería genética, se aplicó inicialmente en la investigación médica. En este proceso se generó ADN recombinante, llamado así ya que se toma material genético de dos organismos diferentes y se recombina de una nueva manera. El empalme de genes y otras técnicas avanzadas han permitido acelerar el proceso de selección genética que ocurre normalmente en la naturaleza. La ingeniería genética incluye clonación de genes, análisis y aprovechamiento mediante su incorporación en células vivas.

La célula es la unidad más pequeña de la materia viva que puede funcionar en forma independiente. Es la unidad estructural y el centro de la vida. La mayoría de las células poseen un cuerpo central, el núcleo, en el cual existen pequeñas estructuras llamadas cromosomas, que son hebras enrolladas y muy condensadas que contienen los patrones hereditarios o genes. Estos son segmentos muy pequeños constituidos por ADN y contienen una serie de instrucciones que dirigen la producción de tipos específicos de proteínas con la función de controlar la mayoría de los procesos químicos fundamentales. Todos los organismos vivos están controlados por los genes. Cuando nuevos genes son introducidos exitosamente por los investigadores en una célula, se integran y reproducen junto con la división celular. Estos genes agregan nuevas instrucciones al organismo, el cual desarrolla características codificadas por el gen que la célula original no poseía y que será transmitida a las sucesivas generaciones.

Los investigadores han usado la ingeniería genética para obtener plantas más productivas, más sanas y menos dependientes de costosos insumos. Existe un

beneficio adicional al reducir la dependencia de productos químicos, porque algunos métodos de protección no son completamente amigables con el medio ambiente. Para su realización, los investigadores deben usar diversas fuentes biológicas y físicas con el fin de modificar la célula. Un nuevo fragmento de ADN (gen) es colocado en un vector, que puede ser una bacteria, un plásmido de bacteria o un virus. El vector actúa como ‘transporte’ e introduce el gen de interés dentro de la célula hacia la cual se ha dirigido. Los sistemas de transformación más empleados son:

- Uso de *Agrobacterium tumefaciens*, bacteria que contiene un plásmido en el cual se insertan los genes de interés.
- Electroporación: mediante un campo eléctrico se incorpora el plásmido a través de las membranas celulares.
- Biobalística o pistola de genes, en donde los tejidos a transformar son bombardeados con partículas microscópicas recubiertas con ADN de interés.

### Áreas de aplicación

Sin duda una de las áreas de mayor impacto de la ingeniería genética, de acuerdo a uso, aplicaciones y número de hectáreas cultivadas, ha sido la resistencia a patógenos y herbicidas. Se estima que en 1998 fueron sembradas 28 millones de hectáreas con cultivos transgénicos (comparados con 11 millones en 1997). El explosivo aumento, en orden de importancia, se ha registrado en EE UU, Argentina, Canadá, Australia, México, España, Francia y Sudáfrica.

Se ha avanzado eficazmente en la obtención de plantas tolerantes a virus e insectos. En cambio, la tolerancia a patógenos bacterianos y fungos se encuen-

tra en etapas más preliminares. En INIA La Platina se han obtenido plantas transgénicas de melón con resistencia al virus del mosaico de la sandía (WMV-II), y papa con resistencia a los virus PVX y PVY, mediada por la proteína de la cápsida viral (VCP), proteína que envuelve la partícula viral.

En relación a la resistencia bacteriana, ya se están evaluando en campo líneas de papas transgénicas tolerantes a pie negro y pudrición acuosa (*Erwinia carotovora*) — proyecto FONDEF, conjunto entre la Pontificia Universidad Católica e INIA Remehue—, en las cuales se han expresado genes que codifican para la producción de proteínas con actividad antibacteriana (atacina, secropina y lisozima). En otros estudios se avanza en la expresión de enzimas capaces de degradar membranas celulares de bacterias fitopatógenas, y la transferencia de genes bacterianos que codifican enzimas capaces de detoxificar las toxinas secretadas por estos patógenos.

La resistencia a hongos se ha basado en:

- a) La expresión y síntesis de fitoalexinas, que son compuestos orgánicos sintetizados naturalmente por la planta como mecanismo de defensa.
- b) El uso de anticuerpos de plantas (plantibodies) dirigidos contra las proteínas que usa el hongo para atacar la planta.
- c) La muerte celular artificial, en donde la planta programa la muerte del tejido dañado para evitar la penetración de las hifas del hongo a los tejidos sanos.
- d) El uso de las denominadas proteínas antifúngicas, incluyendo proteínas relacionadas con: la patogénesis (PR), el gen de la proteína que inhibe los ribosomas (encargados de la síntesis de proteínas) y enzimas capaces de degradar la pared celular de los hongos, las cuales son sobreexpresadas en plantas transgénicas para aumentar su tolerancia al patógeno.

En INIA Carillanca se trabaja en genes que codifican enzimas con actividad antifúngica —capaces de degradar la pared celular de hongos como *Botrytis*, *Venturia* y *Rhizoctonia*—, para transformar genéticamente plantas de manzano y trigo, dando tolerancia a enfer-

medades fungosas, en combinación con bacterias recombinantes que colonizan el manzano, las cuales secretan productos antihongos. Además se pretende transformar al manzano para otorgarle resistencia a insectos, mediante el uso de toxinas sintetizadas dentro de *Bacillus thuringiensis*. La resistencia contra insectos mediada por transformación de plantas con endotoxinas de *B. thuringiensis* es una de las aplicaciones de mayor impacto en la disminución del uso de pesticidas y se encuentra ampliamente difundida. Incluso el USDA (Departamento de Agricultura de EE UU) ha determinado una lista de cultivares libres de regulación, en donde se incluyen plantas que expresan estas endotoxinas, las que al ser ingeridas producen septicemia en el intestino del insecto y le provocan la muerte. También existen otros genes con actividad insecticida, del tipo inhibidores de proteasas y alfa-amilasas, que sumados con diferentes endotoxinas del *B. thuringiensis* pueden otorgar una solución efectiva sin permitir el desarrollo de resistencia en los insectos.

### Cultivos más resistentes

Si se considera que mediante el mejoramiento tradicional los cultivares modernos están alcanzando su techo en productividad física y biológica, y que las tierras cultivables disminuyen sostenidamente, será necesario adaptar las plantas a ambientes más restrictivos, donde la salinidad, el frío o el calor limitan el desarrollo completo de las plantas. En el desarrollo de capacidades anti estrés de las plantas, la ingeniería genética tiene

mucho que aportar. Se ha avanzado en la transformación de plantas con genes que permiten acumular sustancias que aumentan la tolerancia a las sales o a la sequía ("osmoprotectoras"). En INIA Carillanca, en colaboración con la Universidad Austral, se trabaja con genes que se expresan diferencialmente en condiciones de frío extremo, para lo cual se utiliza como modelo a *Deschampsia antarctica*, única gramínea que crece en el continente al cual debe su nombre, capaz de tolerar hasta  $-20^{\circ}\text{C}$  sin morir. Se pretende transformar genéticamente al *Eucaliptus* para conferirle mayor resistencia al frío.

### Mejoramiento de la calidad

Básicamente, dos parámetros de calidad de los cultivos han sido estudiados por ingenieros genéticos: la calidad de frutos y la calidad nutricional. En relación con los frutos, se ha buscado retardar la maduración y aumentar su vida en poscosecha mediante dos estrategias. La primera, disminuir el contenido de etileno por medio de transgénesis de un gen bacteriano que degrada el precursor del etileno (AAC) en plantas de tomate, y por medio de una construcción ARN (ácido ribonucleico) antisentido, es decir que es complementario al ARN mensajero que lleva la instrucción para la síntesis de la proteína, bloqueando a dicho mensajero e impidiendo dar origen a la proteína con la actividad, en este caso contra la enzima que sintetiza etileno (ACC oxidasa), también en tomate. La segunda, se ha centrado en la enzima poligalacturonasa (PG), que produce ablandamiento de frutos por degradación de pectina y ablandamiento de la pared celular. En tomate se ha bloqueado la PG mediante la técnica del antisentido. Como resultado los frutos no se ablandan y pueden madurar en la planta hasta desarrollar todo su aroma, siendo más resistentes al estrés mecánico que ocurre en cosecha, embalaje y transporte.

Desde la perspectiva nutricional, se ha mejorado la calidad y cantidad de aminoácidos. En camote se ha insertado un gen sintético que codifica para una proteína de almacenamiento que tiene un elevado contenido en aminoácidos esenciales, los cuales el organismo humano no puede sintetizar y deben ser ingeridos

Un grupo de porotos muestra daño por ataque de gorgojos, mientras que el otro grupo no presenta daño. Este último ha sido transformado con un gen de otro poroto comestible que inhibe la ingesta del insecto.



en la dieta. El contenido de proteína se incrementó en 2,5 a 5 veces en ensayos de campo. Estas plantas transgénicas no están ahora en producción comercial, sólo en evaluación. Animales alimentados con ellas pesaron 56% más que los que no las ingirieron, y no mostraron evidencia de ningún efecto tóxico.

## Plantas transgénicas para la medicina

Se están desarrollando plantas que producirían vacunas comestibles para proteger contra la diarrea, una de las principales causas de mortalidad infantil en los países en desarrollo. Otros usos biomédicos incluyen la fabricación de formas comestibles de hormona insulina, introduciendo un gen híbrido en papa, y la producción masiva de anticuerpos monoclonales que pudieran ser usados para tratar varias enfermedades. En plantas de soya se han fabricado anticuerpos que previenen la infección por virus de la herpe genital en ratones, y se han usado anticuerpos sintetizados en tabaco para impedir infecciones bacterianas que provocan caries.

Otra línea es la producción de plásticos biológicos en plantas cultivadas. Se ha transformado plantas de *Arabidopsis* (pariente silvestre de las crucíferas) y raps para producir poliéster biodegradable, tal como el co-polímero del poly-3-hidroxibutirato (PHB), el poli-3-hidroxi-valerato (PHBV), mediante transferencia de cuatro genes dentro de las plantas. Otra alternativa diferente ha sido transformar algodón para sintetizar poliéster en los capullos y obtener una mezcla natural de algodón-poliéster. Pero es necesario que estos genes se expresen y dirijan la síntesis de proteínas a localizaciones específicas, tales como la cápsula, donde es producido el algodón.

## Plantas transgénicas contra la polución

Muy interesante desde el punto de vista ambiental es el uso de plantas transgénicas para limpiar contaminantes, lo que se conoce como bioremediación. Estas plantas han sido modificadas para secuestrar metales pesados —tales como cobre, zinc, mercurio y plata— desde si-



Diagrama tridimensional de un plásmido, pequeña molécula de ADN circular que se replica independientemente del genoma. Es utilizada como vector para clonación de fragmentos de ADN.

tios contaminados en donde no es posible el crecimiento normal de plantas, y acumularlos en tejidos que no son consumidos. Se han transformado especies forestales, especialmente destinadas a programas de bioremediación a largo plazo, y plantas capaces de medir el riesgo genético para otras plantas y animales en sitios contaminados con radiactividad.

## Ingeniería genética animal

Dos grandes descubrimientos han impulsado la industria lechera a la vanguardia de las aplicaciones biotecnológicas: la aprobación del uso de quimosina desde una cepa recombinante de *E. coli* K-12 para la elaboración de quesos y la aprobación de la somatotropina bovina recombinante (rBST). Se ha iniciado la producción de proteínas heterólogas —más de una docena de proteínas biomédicas se han producido en la leche de cabras, ovejas y cerdos, incluyendo enzimas, hormonas, albúmina, para diversas aplicaciones médicas—. Se ha logrado modificar la composición de la leche: incrementando la cantidad de caseína para mejorar la estabilidad térmica; eliminando ciertas proteínas del suero para facilitar la digestión, y optimizando los niveles de lactosa y mejoramiento de la com-

posición de lípidos en leche bovina, para su uso en alimentación infantil. También se avanza en el mapeo genómico en rebaños lecheros, para mapear genes de efecto aditivo con técnicas moleculares (microsatélites de ADN). En INIA Carillanca se trabaja en mejoramiento animal asistido con marcadores moleculares para seleccionar genotipos con mayor K-caseína.

## Perspectivas

Las proyecciones indican que la población mundial podría llegar a 11 mil millones en el año 2050. Considerando que la mayor parte de este crecimiento se producirá en África, Asia y América Latina, el gran desafío del sector agrícola será doblar la producción de alimentos el 2025 y triplicarla el 2050, en una menor superficie arable per cápita, con menos recursos hídricos y bajo condiciones ambientales cada vez más cambiantes y adversas. Todo esto enmarcado en limitaciones al uso de productos químicos nocivos y en un mayor respeto y cuidado del medio ambiente, la salud y el bienestar de las personas.

Los desafíos imponen soluciones creativas, basadas en un mayor conocimiento de los procesos bioquímicos y moleculares que regulan la producción de alimentos. La ingeniería genética presenta una serie de herramientas muy promisorias y factibles de usar en forma sinérgica con las técnicas convencionales de mejoramiento genético, para así aumentar y proteger la biodiversidad de los organismos vivos.▲