

Biotecnología agrícola

La nueva revolución verde

MARGARITA PEREA*

Através de la historia de la agricultura, el hombre ha trabajado para obtener mayor producción y mejor calidad. A comienzos del Siglo con el desarrollo de la bioquímica, fisiología y genética, se obtuvieron progresos científicos y se establecieron bases para lo que se ha denominado la agricultura moderna.

Después de la Segunda Guerra Mundial, uno de los logros obtenidos en la agricultura fue la creación de variedades más productivas de maíz, trigo, arroz y otros cultivos con la ayuda de fertilizantes, plaguicidas y herbicidas y riego tecnificado contribuyendo de manera eficaz a la producción de alimentos.

A mediados de la década de los Sesenta en Estados Unidos, algunos países de Europa, América Latina y Asia, las investigaciones sobre vegetales concentraron la atención en la denominada "Revolución Verde", para designar el conjunto de esfuerzos realizados en el aumento de la producción agrícola mediante la obtención de nuevas variedades. La selección de estas variedades de alto rendimiento se consiguieron mediante la transferencia de un conjunto de caracteres cromosómicos por intermedio de cruces, los cuales se hacían al azar y requerían tiempos prolongados para la evaluación (Sasson, 1984).

A pesar de que la "Revolución Verde" no ha constituido un éxito completo, realizó un aporte muy importante para el bienestar de la humanidad. Sin embargo, en los últimos años se constató que no se obtuvo el incremento de la producción, que la revolución verde había previsto alcanzar.

Nueva Revolución Verde

La "Nueva Revolución Verde" de la que se habla desde mediados de los años setenta, proyecta en el futuro crear y cultivar "nuevas plantas". La obtención de estos clones no se basa en las técnicas de cruce, de hibridación y de polinización cruzada. En efecto las nuevas metodologías están orientadas al cultivo de células, protoplastos y tejidos, además de las técnicas de recombinación genética para conseguir una gran diversidad biológica a partir de los mecanismos moleculares y celulares (Sasson, 1984).

Actualmente, el desarrollo de las técnicas de cultivos de células y tejidos "in vitro" como recurso para mejorar variedades con características deseables, ha permitido avances significativos en la solución de diferentes problemas en cultivos de importancia económica, habiéndose logrado un novedoso desarrollo.

El cultivo de células y tejidos vegetales constituyó la gran diversidad biológica, que proyectada en el campo de la biotecnología, abre perspectivas muy interesantes para la búsqueda de soluciones nueva y útiles. Según Sondahl 1986, estas pueden agruparse de la siguiente manera:

A. Corto Plazo:

1) Obtención de plantas libres de patógenos, 2) Propagación clonal, 3) Almacenamiento de germplasma.

B. Mediano Plazo:

- Mejoramiento Genético: 1) Producción de plantas haploides, 2) Variación somaclonal, 3) Rescate de embriones.

C. Largo Plazo:

1) Hibridación somática, 2) Ingeniería genética, 3) Metabolitos secundarios.

Los ensayos iniciados por el Botánico Alemán Haberlandt (1902) cuando se discutía sobre la totipotencia de las células fueron continuados por Kotte y Robbins. Posteriormente, los progresos logrados por White en Estados Unidos, Street en Inglaterra, Gautheret y Nobecourt en Francia, demostraron la posibilidad de cultivar segmentos de tejidos (raíces) indefinidamente bajo la forma de estructuras celulares indiferenciadas. Luego con los trabajos exitosos de Steward y Skoog en Estados Unidos y otros investigadores europeos contribuyeron a solucionar varios problemas morfofisiológicos (Auge y otros 1984).

Los avances logrados por Muir, Hildebrandt y Riker (1954) en el establecimiento de los primeros cultivos de células en suspensión, similares a los microorganismos, solucionaron algunos factores biológicos. Los cultivos vegetales tuvieron mayor interés desde cuando Morel y Martín (1952) demostraron que los tejidos meris-

* Coordinadora Cultivo de tejidos vegetales, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional.

temáticos tenían la capacidad de desarrollar "in vitro" plantas completas exentas de virus.

A. METODOLOGIA DE APLICACION CORTO PLAZO

Cultivo de Meristemos

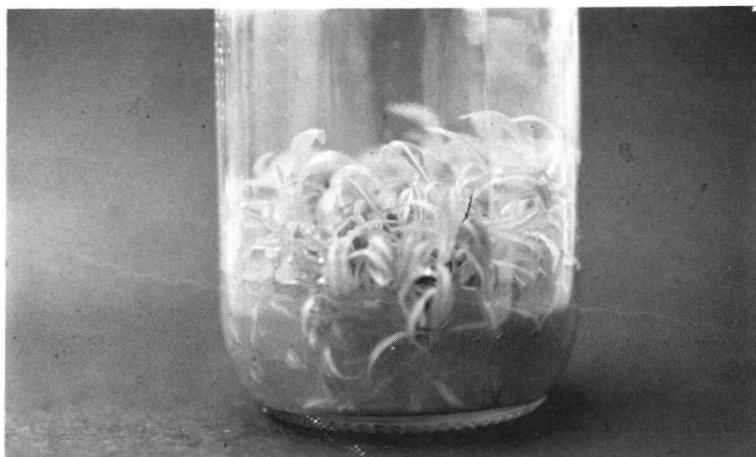
El meristema es una pequeña masa de células indiferenciadas situadas en la parte terminal del tallo "ápices o yemas", ofrece la posibilidad de eliminar patógenos vasculares y sistémicos como los virus, viroides y micoplasmas de gran número de especies propagadas vegetativamente. Sin embargo, el hecho de utilizar el cultivo de meristemos no asegura la erradicación total de ciertos virus, es entonces, cuando se recomienda utilizar la termoterapia para la erradicación de virus específicos. El Centro Internacional de la Papa CIP en Lima-Perú, se encarga de limpiar para algunos países asiáticos y africanos sus variedades de papa y suministrarles las semillas básicas libres de patógenos.

La Propagación Clonal o Micropropagación

Consiste en la proliferación de brotes mediante la fragmentación de ápices o yemas axilares las cuales son manipuladas en condiciones asépticas y transferidas a un medio de cultivo apropiado para luego ser desarrolladas en condiciones asépticas.

Una de las ventajas de la micropropagación es la posibilidad de realizar en poco tiempo y en espacios reducidos, la multiplicación a gran escala de clones seleccionados por sus calidades de producción o por su estado sanitario. Varias de las especies de plantas cultivadas que son propagadas por la vía asexual, están siendo multiplicadas "in vitro" con el objeto de conservar ciertas características esenciales de la variedad, ya sea porque son estériles o bien por que su genoma es demasiado complejo y la reproducción sexual podría presentar variaciones fenotípicas (Figura No. 1).

FIGURA No. 1



(a)



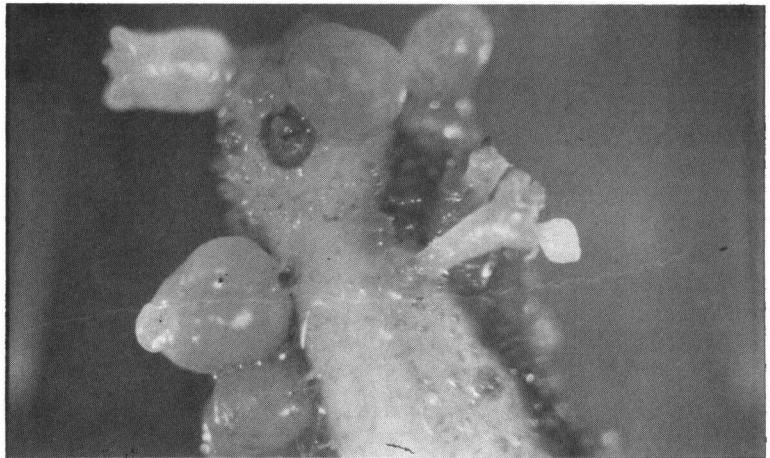
(b)



(c)

Biotecnología Agrícola

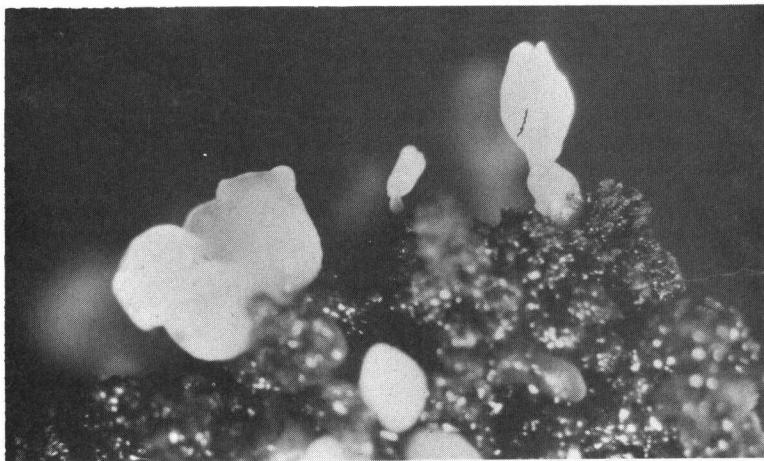
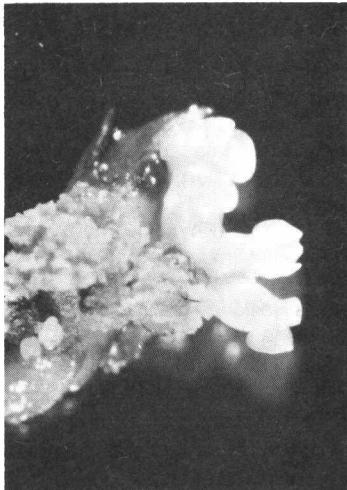
FIGURA No. 2



Embriogénesis somática de cacao (*Theobroma cacao*).

Se observa la secuencia del desarrollo de embriones somáticos (asexuales) en los diferentes estadios: globular, corazón y torpedo.

Investigaciones realizadas dentro del Programa Conjunto con el Organismo Internacional (IAEA), la FAO y la Universidad Nacional - Bogotá.



En plantas ornamentales y algunas herbáceas se utiliza de manera eficiente la propagación vegetativa "in vitro", sin embargo, las especies arbóreas han presentado algunas dificultades por su condición estructural y porque los procesos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos han sido menos estudiados. Recientemente, se han obtenido algunos progresos logrando regenerar plantas completas, i.e. Eucaliptus en Brasil y Australia, pino en México y Canadá. En lo que respecta al grupo de monocotiledones, el sistema de propagación ha sido desarrollado más lentamente, en especial palma africana, (Rabechault et al 1972), Musáceas (Krikorian, 1988) y gramíneas (Conger et. al. 1988).

Los investigadores australianos han logrado la clonación del eucalipto de ribera. La importancia de ello radica en que dichos árboles pueden crecer en suelos muy salinos no apropiados para la agricultura, es decir, en tierras que se pueden dedicar a plantar eucaliptos. La esperanza está en que al crecer extraigan el agua del suelo, lo que permitiría limpiar las sales de las capas superficiales del suelo (Prentis, 1987).

Otros sistemas de propagación masiva son la *Organogénesis* y la *Embriogénesis Somática* (directa o indirecta), ofrecen también un excelente potencial para el mejoramiento genético.

La formación de los embriones puede ocurrir a partir de una o varias células, las cuales pasan por una secuencia de estructuras similares a la formación de embriones zigóticos (globular, corazón y torpedo) (Figura No. 2).

La producción masiva de embriones completos y la capacidad de estos para germinar y desarrollar plantas es de un potencial de alta significancia, para cruces naturales en cultivos perennes.

De Langhe (1986), considera que la embriogénesis somática podría ser en un futuro la clave para el mejoramiento en plátano y banano.

Con los recientes avances de la embriogénesis somática y rege-

neración de plantas de plátano y banano, se estableció perfectamente la sincronización de los embriones somáticos, lo cual abre nuevas perspectivas a la tecnología de "semillas artificiales" en Musáceas como una metodología alterna de propagación en el futuro (Novak, et. al., 1988) (Figura No. 3).

Preservación de Germoplasma

La destrucción de ecosistemas por sobre explotación, la contaminación y la introducción de variedades de alta productividad han ido desplazando aquellas variedades tradicionales. Este constante aumento de la producción agrícola va en detrimento de la variabilidad genética de la mayoría de las especies cultivadas y silvestres.

El cultivo de tejidos permite mantener gran cantidad de material vegetal tal como plantas, tejidos somáticos y aún células, almacenado en un crecimiento controlado por bajas temperaturas, en condiciones asépticas. Esta alternativa permite mantener importantes bancos de germoplasma de leguminosas, cereales y representaría una posibilidad para aquellas especies frutales, maderables, forrajes y plantas medicinales, que debido a la deforestación desaparecen a pasos agigantados de las zonas tropicales.

B. METODOLOGIA DE APLICACION A MEDIANO PLAZO

Mejoramiento Genético

La variabilidad genética en el fitomejoramiento tradicional constituye para los genetistas y fitomejoradores una herramienta muy importante. Actualmente, con la implementación y los avances de cultivo y células vegetales se pueden lograr nuevas variantes naturales a partir de tejidos somáticos, lo cual permite el hallazgo de mutaciones espontáneas en corto tiempo.

Con la obtención de plantas haploides, el rescate de embriones,

la fertilización "in vitro", el uso de la ingeniería genética y la mutagénesis se pueden lograr variedades de mayor rendimiento, productividad, resistencia a enfermedades y a condiciones adversas (Perea, 1988).

Producción de Plantas Haploides: Cultivo de Anteras

El cultivo de anteras tiene relevancia en la utilización de sus tejidos haploides, es decir, los granos de polen son utilizados como material genético altamente específico. Dicho material permite mutaciones seguras y así obtención de variedades nuevas de genomas conocidos.

Rescate de Embriones

A medida que las especies divergen unas de otras de un ancestro común, sus genomas se van haciendo cada vez más diferentes y van perdiendo homología. El cultivo "in vitro" salva estos problemas a través de la fusión de células somáticas, la transformación genética y el rescate de embriones. Por medio de este mecanismo, se pretende pues, el aumento del rango de entrecruzamiento rescatando embriones inmaduros, antes de ser abortados por incompatibilidad.

La Variación Somocional

Denominada también variabilidad genética resultante de las plantas derivadas "in vitro" de células somáticas. Este fenómeno observado por Larkin y Scowcroft (1981) en gran número de especies regeneradas a partir de células, tejidos de la planta de origen, lo denominaron variación somocional (de células somáticas) gametocional (de células sexuales o genéticas) protocional (de protoplastos) clorocional (de cloroplastos) o mericlonal (de meristemos).

C. METODOLOGIA DE APLICACION A LARGO PLAZO (Células y Protoplastos)

Hibridación Somática

El potencial genético de las células vegetales para regenerar

plantas fue establecido por Steward y Krikorian (1971). Este mecanismo origina variabilidad genética la cual es utilizada por los mejoradores en la selección de variedades agronómicamente importantes.

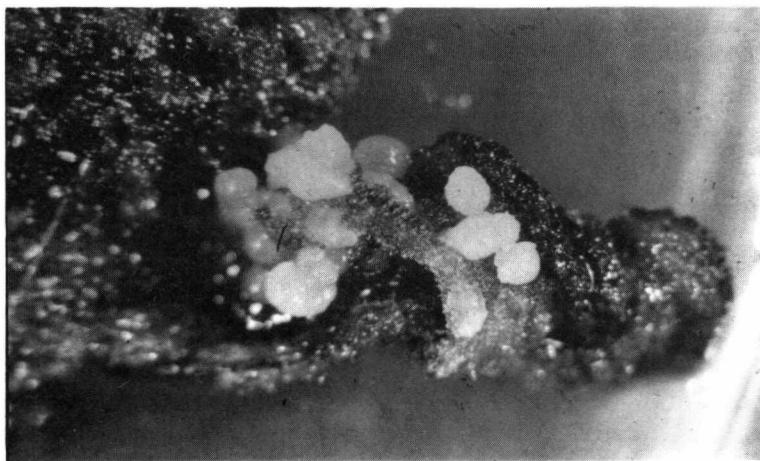
La fusión de células vegetales aisladas o intactas es imposible puesto que poseen una pared celular rígida, mientras que las células animales están limitadas únicamente por la membrana celular. En 1960, Cocking en Inglaterra demostró la posibilidad de eliminar la pared de las células por la vía enzimática y obtener células viables, desnudas a las que denominó protoplastos. Estas unidades constituyen los receptores más apropiados para la transferencia de genes, macromoléculas y organelos celulares de preferencia cloroplastos y mitocondrias y en consecuencia la posible incorporación a una célula de un nuevo control genético para producir nuevas enzimas en otros componentes deseados (Fowke y Gamborg, 1980).

Ingeniería Genética

Existen otros aspectos de gran importancia que se pueden lograr mediante la transformación de genes específicos. El intento de introducir genes o fragmentos de ADN que puedan transmitir a otras células un ADN extraño ha sido estudiado particularmente, por Van Montagu y Schell en Bélgica y Alemania.

El sistema más estudiado ha sido la utilización del *Agrobacterium tumefaciens*, la bacteria que produce tumores en los vegetales. Estos tumores consisten en una masa de células de la planta que proliferan con rapidez porque no obedecen a los mecanismos normales de control de crecimiento de la agalla y, en este sentido, es análogo a los tumores animales. El *Agrobacterium tumefaciens*, presenta en el interior de la célula un pequeño fragmento circular de ADN llamado plásmido inductor de tumor (plásmido Ti) (Prentis, 1987)

FIGURA No. 3

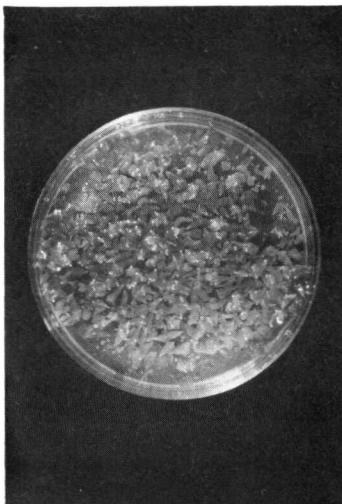


(a)

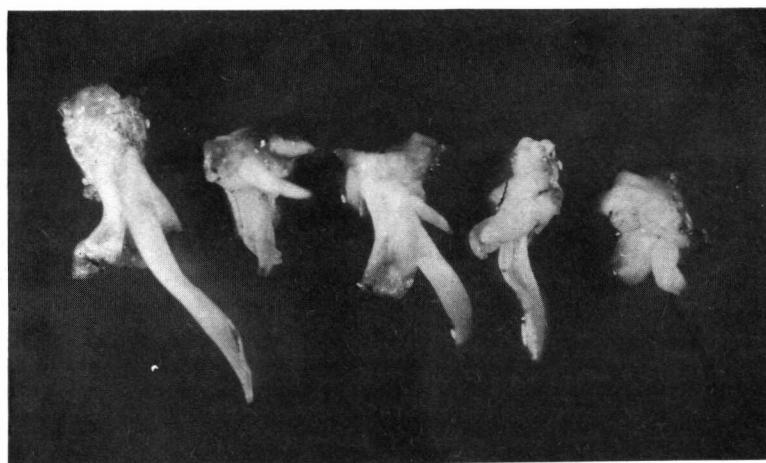
Emбриogénesis somática de plátano y banano.

- a) Formación de embriones
- b) Desarrollo de embriones
- c) Regeneración de plántulas proveniente de embriones somáticos.

Investigaciones realizadas dentro del Programa Conjunto con el Organismo Internacional de Energía Atómica (IAEA), la FAO y la Universidad Nacional, Bogotá.



(b)



(c)

La proliferación de células se produce cuando se transfieren plásmidos inductores de tumor desde las bacterias hasta los cromosomas de la planta infectada, es entonces cuando el cambio de su constitución genética induce las células de la planta a crecer y dividirse muy rápidamente.

Metabolitos Secundarios

El potencial en la producción de compuestos útiles a partir de algunas plantas permite asumir un futuro promisorio en el incremento de sustancias económicamente importantes.

Con la utilización de los cultivos celulares "in vitro", la posibilidad de obtener sustancias de gran interés en la Farmacia, Alimentación e Industria, ha tomado mucho interés; es así como actualmente ya se obtienen compuestos a escala comercial en varios países industrializados.

Cultivo de Tejidos en Colombia

La Biotecnología Agrícola en Colombia ha tenido últimamente, un incremento importante donde se destaca el cultivo de tejidos vegetales. Es así, como por ejemplo, diversas empresas particulares de flores se dedican a producir material sano mediante la propagación "in vitro" de algunas especies ornamentales, como clavel, crisantemo, rosas, alstromeria, gypsophila y otros.

De otra parte la Unidad de Biotecnología del CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) realiza investigaciones dirigidas al mejoramiento genético y saneamiento de especies del primer orden en las áreas tropicales como son: la yuca, el arroz y leguminosas. Además, ha establecido Bancos de Germoplasma de gran relevancia.

El ICA (Instituto Colombiano Agropecuario) ha demostrado gran interés y ha desarrollado algunas investigaciones en el cultivo de meristemos de papa, microinjertación de cítricos y otros cultivos. Recientemente, este Instituto presentó un proyecto de desarrollo de la Biotecnología para

las diferentes seccionales del país.

La Federación Nacional de Cafeteros en el LIQC, (Laboratorio de Investigaciones de la Química del Café) ha realizado investigaciones con algunas variedades de importancia para el país, obteniendo la regeneración de plantas a partir de la embriogénesis somática de café. Ultimamente, se ha intensificado el trabajo hacia la diversificación de algunos frutales (Pitahaya).

Por otra parte, en los Laboratorios de CENICAFE en Chinchiná-Caldas, realizan igualmente investigaciones orientadas al mejoramiento genético de cultivares de café por la vía de la embriogénesis somática. En Musáceas, plátano y banano, se ha realizado la micropropagación de algunas clones de plátano de interés para la institución.

Las entidades de Educación Superior, han establecido Laboratorios de Cultivo de Tejidos, en donde desarrollan investigaciones.

En el caso de la Universidad INCCA de Colombia, ha demostrado interés por la propagación de especies maderables como los pinos y últimamente, han logrado avances en la feijoa.

La Pontificia Universidad Javeriana, en el Departamento de Biología, ha venido trabajando desde hace varios años en especies forestales como *Podocarpus sp.*

En la Universidad de Caldas, la Facultad de Agronomía, desarrolla un programa de investigación orientado a la propagación y selección de Musáceas. Otra de las investigaciones que realiza es la regeneración de plantas de Bambú.

El Departamento de Biología de la UIS, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, dirige sus investigaciones a la propagación de forestales de interés en la región y algunas ornamentales.

En la región de los Llanos Orientales, La Universidad Tecnológica de los Llanos, Facultad de Agronomía, se establece un programa para la propagación de especies Tropicales.

La Universidad Tecnológica de Tunja, se ha dedicado al establecimiento de propagación de frutas de hoja caduca.

La Universidad Pedagógica Nacional de Bogotá, realiza investigaciones para la docencia, proyecta la realización de investigaciones en mejoramiento genético.

Recientemente entidades como CENIBANANO-AUGURA y CORNARE (Corporación Andina Regional - Rionegro, Antioquia), en el Departamento de Antioquia, han iniciado sus trabajos en cultivo "in vitro"

La Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Sede en Medellín y Bogotá, se dedican a la propagación de banano y a la investigación de otros cultivos tropicales.

Dentro de las investigaciones que se adelantan en los Laboratorios de cultivos "in vitro" de la Facultad de Ciencias y el Instituto de Biotecnología, está el Programa de Musáceas, orientado al mejoramiento genético para la obtención de clones resistentes a enfermedades especialmente, a la Sigatoka negra y el Mal de Panamá

Se han logrado avances considerables en la embriogénesis somática e inducción de mutantes para la regeneración de plantas, las cuales deben ser evaluadas en campo.

Recientemente, se ha establecido la metodología para la obtención de embriogénesis somática en cacao con el propósito de establecer mutantes y regenerar plantas a partir de células para desarrollar líneas resistentes a algunas enfermedades que atacan este cultivo, tales como la molilisis, escoba de bruja y otras.

El Grupo es pionero a nivel nacional en el desarrollo de embriogénesis somática en plátano, banano y cacao. Pocos Investigadores en esta área a nivel mundial han podido llegar a obtener estos resultados.

Se proyecta el desarrollo de tecnología de vanguardia para el mejoramiento de Musáceas (Cultivo de Células y Protoplastos).

Conclusiones

- Es importante precisar que los procesos Biotecnológicos que involucran las Ciencias Biológicas, ofrecen muchas posibilidades para aumentar la producción y calidad de nuestros germoplasmas. Esta nueva revolución Biotecnológica, fundamentada en dichas disciplinas, permite a través de las metodologías "in vitro" la posibilidad de propagar, modificar y transferir de manera controlada, genes para la obtención de nuevas variedades.

- Los beneficios potenciales, en cuanto a la aplicabilidad de la Biotecnología Agrícola, podrán contribuir eficazmente al incremento de la producción agrícola nacional; por esta razón es importante, establecer prioridades de investigaciones y desarrollo, aglutinando grupos interdisciplinarios que permitan realizar desarrollos tecnológicos, que impliquen trabajos de laboratorio, pruebas y evaluación en grupo; para obtener como producto final, variedades mejoradas en cuanto a calidad, producción y resistencia a enfermedades y plagas.

- Una ventaja adicional radica en que estas técnicas son accesibles puesto que la infraestructura requerida para la producción de clones no es costosa y se podría multiplicar el trabajo dotando laboratorios en diferentes regiones del país, con el fin de estudiar gran variedad de cultivos, de acuerdo a las diferentes condiciones ecológicas.

- Tal como se ha mencionado, las investigaciones catalogadas como realizables a corto plazo, ya se están desarrollando en el país. Sin embargo, es prioritario potenciar los recursos humanos y financieros con el fin de emplear las modernas técnicas de Biología Molecular en Vegetales. Este salto cualitativo permitiría realizar manipulación genética para obtener variedades con mayor contenido proteíco y/o resistentes a patógenos incorporando genes de resistencia o producción de metabolitos que actúen como insecticidas.