

Artículo publicado en la revista de la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Nación, I + D, Investigación y Desarrollo, No. 2, 1995. Está en el límite de la historia *actual* de la ciencia, y la divulgación científica.

EL LABORATORIO DE INGENIERIA GENETICA VEGETAL

LA PAPA, UN ALIMENTO BASICO

Es sabido que las grandes culturas se han edificado alrededor del cultivo de especies vegetales. Así, sería impensable la cultura oriental sin la existencia del arroz, o la occidental -europea y mediterránea- sin el trigo. La primera gran etapa en la evolución de la humanidad estuvo marcada por el pasaje del nomadismo al asentamiento -estable- en poblados merced a la domesticación y el cultivo de especies vegetales -esencialmente- y animales. Una vez logrado así un excedente previsible de alimentos, más allá de una buena caza, hacen su aparición la alfarería, el telar, las herramientas, las construcciones, las formas sociales institucionalizadas. Aquello que es distintivo de la especie humana, la construcción de un mundo hecho a su medida, en el que le sea más fácil sobrevivir, tiene su origen en el cultivo de la tierra.

En América, las grandes culturas del norte florecieron gracias al maíz, mientras que en el sur, la papa hizo posible la existencia de la alta cultura incaica. Estas dos especies alimenticias son parte del legado de América a la humanidad.

En la actualidad, la papa es el quinto cultivo en importancia en el mundo, por lo que una mejora aún pequeña en su desarrollo, es, por su volumen, una contribución importante a la alimentación mundial.

En la Argentina, el rendimiento medio por hectárea de las plantaciones de papas -la más elevada de Latinoamérica- ronda las 27 toneladas, mientras que en Europa es del orden de las 40-50 toneladas. Su aumento -sólo obtenible empleando más y mejor tecnología- redundaría tanto en una mayor provisión de alimentos, como en un mayor provecho económico de la tierra, volviendo más competitivo su cultivo.

EL LABORATORIO DE VIRUS Y PAPAS

En el estudio de la papa mediante ingeniería genética confluyen aspectos de ciencia básica, tales como el estudio de la biología general de los virus, y aspectos aplicados, como el lograr una planta resistente a los agentes agresores, entre ellos los virus propios de la papa.

La importancia de este cultivo es básicamente alimenticio, pero puede dar lugar a aplicaciones, algunas tecnológicas, como el constituirse en la materia prima con la que fabricar envases y artículos descartables, otras ligadas a la biotecnología, como lo es el utilizarla como biorreactor para la obtención de insulina de uso humano.

La historia de este laboratorio comienza hace casi diez años, cuando su director, Alejandro Mentaberry regresa al país luego de cuatro años en Nueva York cursando estudios posdoctorales. Su interés primario era la estructura de los virus y los genes, fundamentalmente vegetales. Hoy trabaja en él un grupo humano de diez personas, entre las cuales se encuentran sus más cercanos colaboradores, los doctores Fernando Bravo y Silvia Cabral, cuatro tesis de doctorado, un estudiante y tres técnicos que siguen estas investigaciones, ahora con una fuerte tendencia de transferencia tecnológica como la que significa obtener especies de papa resistentes a los virus que la atacan.

¿Por qué la papa, por qué estos estudios innovadores en uno de los cultivos más tradicionales?

Digamos primeramente que el nuevo camino no se encontraba demasiado lejos del que habían recorrido en un principio, y en el curso del cual obtienen el desciframiento completo de la estructura genética de un virus vegetal en 1989 -estudio pionero en el país-, y dos años más tarde la primera planta transgénica del país.

Además de obvias consideraciones alimenticias o sociales, existieron motivos técnicos que inclinaron la balanza hacia el estudio de la papa, y luego a su mejora genética. Por un lado la papa es un vegetal cuya estructura genética -constante desde hace siglos- es de fácil manipulación técnica, lo que lo hace un soporte adecuado para estudios de ingeniería genética. Por otro, los virus que la ataca son sencillos de estudiar desde el punto de vista biológico, constituyendo un buen modelo para estudiar la biología general de los virus. La peculiar relación que se establece entre el organismo huésped y el agente agresor constituye una unidad, un sistema -en este caso llamado planta-virus-, cuyos resultados pueden extrapolarse a otros sistemas similares, en otras especies, y a otros virus.

Otro motivo de índole técnica, pero también de orden histórico y cultural, fue el que la papa es originaria de América -pertenece a su patrimonio genético-, y es aquí donde se encuentran sus distintas especies en toda su variabilidad genética. Era natural, entonces, que investigadores latinoamericanos le dieran prioridad por sobre especies foráneas.

Por las razones expuestas, la papa fue elegida para investigaciones de índole básica, de las que derivó el primer convenio del Laboratorio con una empresa comercial -el convenio CONICET-IQA-, destinado a brindar asesoría en el diagnóstico de las enfermedades virósicas de las papas. Desgraciadamente, la experiencia se truncó porque la empresa desistió de continuarla en nuestro país, y traslada los conocimientos ya obtenidos a su casa matriz en Israel.

Una vez iniciado el camino de la transferencia tecnológica, comienzan a investigar las variedades de papas utilizadas por los chacareros de Balcarce, a fin lograr su resistencia a algunos virus -específicamente los denominados PVX y el PVY-, con las herramientas teóricas de la ingeniería genética. El desafío consistía en implantar en ellas un gen adicional, obteniendo de esta manera una variedad transgénica que las hiciera resistentes.

Pensaron que, de tener éxito, no sólo lograrían un nuevo y valioso conocimiento; obtendrían también un enorme impacto social, económico, alimenticio, industrial.

LA “SUPERPAPA”

En el Laboratorio de Ingeniería Genética Vegetal se acostumbra llamar -en tono de broma interna- “superpapa” a una papa ideal que pueda resistir todas las agresiones de su medio ambiente.

El grupo de investigadores del laboratorio de ingeniería genética vegetal del INGEBI no tiene como único objetivo obtener variedades de papa resistentes a los virus. Se propone lograr una papa que resista además de los virus, a otros agentes agresores, como las bacterias, los hongos, los insectos. Pero el grupo de investigadores del INGEBI no puede hacerlo con sus solas fuerzas. Los conocimientos y habilidades necesarios para hacer plantas resistentes a todos estos factores se encuentran diseminados en una amplia comunidad de investigadores. Es parte de la estrategia de

desarrollo de los grupos latinoamericanos unir fuerzas -formando una “masa crítica” de conocimientos genéticos- para mejorar un cultivo central a nuestra alimentación y a nuestro patrimonio vegetal.

La implementación del MERCOSUR con sus estándares de control sanitario vegetal -implantados en nuestro país por el IASCAV, equivalente para los vegetales, a las normas que en sanidad animal establece el CENASA- fue uno de los factores que contribuyó a la unión de los investigadores regionales que buscan cultivos resistentes a las enfermedades, y a suscribir su propio acuerdo de cooperación científica. En el país, es constante la cooperación y la comunicación entre el INGEPI y los investigadores en papas del INTA Castelar y Balcarce..

Indice de la madurez de la integración de los grupos de investigación fue la realización en Puerto Iguazú entre el 4 y el 9 de junio de 1995 del Segundo Encuentro Latinoamericano y Tercer Encuentro Argentino de Biotecnología Vegetal en el que se discutieron temas científicos y otros que hacen al desarrollo económico y social de la región, y a la necesaria interacción entre el sector productivo y el académico.

EL FUTURO DE LA BIOTECNOLOGIA DE LA PAPA

La proyección de los estudios sobre la papa no terminan en la superpapa, pese a su importancia. Podríamos mencionar el uso de los almidones de la papa para fabricar objetos descartables que por la misma índole de su materia prima sean biodegradables. La fabricación de una birome descartable es apenas el inicio de esta posibilidad, cuya mayor proyección sería la fabricación de envases. El envase descartable del mañana, biodegradable, ecológico, no contaminante, estaría hecho de almidón de papa.

A esta aplicación derivada de la papa, debemos agregar el que al implantarse en una especie un gen determinado -que puede ser de cualquier especie vegetal o animal-, produce el mismo efecto en el organismo implantado que en el de origen. Por ejemplo, podría implementarse una variedad de papa transgénica que porte el gen de la producción de insulina. Por sorprendente que sea, y siendo la papa un buen biorreactor, no es un imposible. Por otra parte, la purificación de la insulina resultante sería un procedimiento sencillo y económico, dado que la papa está formada fundamentalmente por agua y almidón, de fácil separación. De modo que hacer de una variedad transgénica de papa una fábrica biológica de insulina -que hace años parecería de ciencia-ficción- no se encuentra demasiado lejos de la agenda de los investigadores en ingeniería genética.

LAS RAZONES DE LA INGENIERIA GENETICA

Por sus características biológicas, el proceso de lograr especies de papas distintas a las primeras introducidas masivamente en el cultivo para consumo humano, necesariamente debe apelar a la ingeniería genética si se intenta lograrlas en un lapso razonable.

Constantemente, los granjeros buscan para sus sembradíos especies que se adapten mejor las condiciones de cultivo, que resistan a los virus, bacterias y hongos que los atacan, que repelan a los insectos. En su consecución se juega la mejoría de las cosechas.

Como no se les pueden dar a las plantas medicamentos contra los virus, los procedimientos deben ser fundamentalmente preventivos, consistentes en combatir los

reservorios de virus, elegir la época de cosecha, plantar semillas libres de virus ... o conseguir variedades resistentes a la infección.

Normalmente, esto se consigue mediante el cruzamiento sexual de los individuos en la época de floración, y la selección de los más aptos.

En el caso de la papa, existen algunos inconvenientes para hacerlo, derivados de su gran complejidad genética, puesto que son tetrahaploideos, es decir, que su material genético proviene de cuatro gametos, en vez de dos, como en el ser humano, con la consiguiente ampliación de las posibilidades combinatorias entre ellos.

Recordemos que las variedades de papas de buenas características para su cultivo y consumo por parte del hombre llegaron a ese estado denominado *agronómico* de una manera enteramente artificial, logrado por una fuerte y constante presión de selección provocada.

Si se dejara librada la evolución al cruzamiento natural de las plantas, la combinación compleja de sus genes derivada de su constitución tetrahaploidea, haría que las variedades conocidas volvieran rápidamente a estados silvestres, menos útiles para el hombre, quizás porque para la propia especie vegetal -para su funcionamiento y para su adaptación natural- no le son especialmente valiosas las características seleccionadas artificialmente.

A fin de evitar este retroceso, la siembra no se hace con semillas obtenidas luego un proceso natural de floración y fecundación en campo abierto. La multiplicación de las plantas se hace por *clonación*, aprovechando que en cada porción de la planta -en cada célula- existe *toda* la información del organismo completo, con la es posible generar desde pequeñas porciones de la planta la planta completa, como vimos en la recordada película de ficción *Los niños del Brasil*. Cuando se siembran tubérculos de papa se utiliza esta propiedad, puesto que la así llamada papa-semilla no es una verdadera semilla, sino una porción de papa que generará la planta completa.

Estrictamente hablando, toda la producción de papas de una misma variedad es idéntica a sí misma, es un único individuo multiplicado al infinito, puesto que cada una de ellas posee la misma información genética. Lo mismo sucede, por ejemplo, con la frutilla y el ajo. Nunca hay recombinación de genes, como sucede en la reproducción sexuada de las especies en libertad.

En las especies silvestres es posible advertir una casi infinita variabilidad individual, sea en el tamaño del tallo o de las hojas, en el color en la floración, etc. En esta variación individual se juega la adaptación ante los agentes agresores, que -por ser distintos- los atacan desigualmente, motivo por el cual algunos de ellos sobreviven, y con ellos la especie. En los cultivos, se busca deliberadamente la homogeneidad: granos siempre iguales, tubérculos semejantes, tomates de igual tamaño y color. Esta circunstancia los hace altamente vulnerables -uniformemente vulnerables-, sin posibilidad de defenderse por los mecanismos evolutivos naturales.

Es poco sabido, quizás, que todas las papas que se cultivan en el mundo son descendientes de apenas 4 ó 5 especies -de los cientos existentes en el altiplano sudamericano- que fueron llevadas a España por los conquistadores en el siglo XVII. De allí, dos de ellas pasaron a Inglaterra, donde gracias a los cuidados de los seleccionadores de las variedades más favorables para el consumo, en términos de plantas más saludables, de fácil cultivo y de buen tamaño y sabor, se logran los ejemplares actuales, que hacen su ciclo de regreso al continente americano por las colonias inglesas del norte, descendiendo desde allí hasta la América hispana.

Dada su reproducción por clonación, no ha habido prácticamente modificaciones en la información genética de las especies cultivadas desde hace centenares de años. El mejoramiento logrado durante este largo período -realizado por selección clásica- hizo

que apareciera cualidades que estaban contenidas en ellas, pero que no se expresaban, sin que implicara cambio alguno en su sustrato genético básico.

Si ahora se quiere introducir en esta especie un gen nuevo proveniente de una variedad silvestre, mezclándola con las variedades de cultivo, para obtener una propiedad que éstas no poseían, por ejemplo, una resistencia a los virus, dada la complejidad genética, el proceso duraría alrededor de cuarenta años, puesto que la selección tiene que seguir, necesariamente, dos largos caminos. Por el primero, se selecciona la cualidad requerida; desdichadamente, al hacerlo, se pierden algunas de las cualidades agronómicas por las cuales era valiosa, lo que obliga, una vez logrado el primer propósito, y ya con esta adquisición, a rehacer el camino y retroceder hasta lograr el estadio agronómico del que se partió.

La ingeniería genética se propone lograr los mismos fines -una variedad con propiedades nuevas- exactamente de la misma manera que en ese proceso de mezcla y selección, mediante la introducción en la especie de un gen adecuado. Nada más que con esta técnica, el proceso no se deja a la casualidad de los intercambios probabilísticos de las mezclas genéticas, sino que se introduce -de manera dirigida- un gen cuyo efecto se conoce de antemano. Por este motivo, los resultados se obtienen en un plazo razonablemente corto, que llega a los 4 ó 5 años.

LOS METODOS DE LA INGENIERIA GENETICA

Los procedimientos por medio de los cuales se obtienen especies de papas resistentes a los virus fueron puestos a punto en el laboratorio de Ingeniería Genética Vegetal del INGEBI, logrando finalmente el fin propuesto.

La metodología para introducir en la papa un gen que la proteja de la acción de virus agresores -centralmente el PVX y el PVY-, y los conocimientos básicos para lograrlo, son del dominio teórico y práctico del grupo de Ingeniería Genética del INGEBI, familiarizados por sus investigaciones básicas estos virus y con su estructura genética.

Brevemente, consiste en seleccionar como gen protector aquel que hace que se produzca en el virus la capa de proteínas que lo recubre, el que posteriormente se introduce en una bacteria, para que a su vez, al invadir la papa, lo transporte a su interior. Posteriormente se controla si efectivamente la implantación fue exitosa, poniendo la planta en contacto con un antibiótico, que muestra, con la reacción que provoca, si se efectuó o no.

El proceso no termina en este punto. Pudiera suceder que la introducción del gen, y la obtención de la resistencia a la infección fueran exitosas, y que a pesar de esto los ejemplares obtenidos no tuvieran un buen crecimiento, o no mantuvieran las cualidades agronómicas que la hicieron valiosa para el cultivo.

La siguiente etapa consiste en plantar los ejemplares a campo abierto, donde ingenieros agrónomos evaluarán la especie mejorada genéticamente, antes de su transferencia e incorporación al proceso productivo.

EL MOSAICO DEL TABACO, LA INGENIERIA GENETICA Y LA PAPA

La búsqueda de resistencia de las plantas a las infecciones virales había sido encarada hace cerca de cincuenta años por científicos que no poseían ese momento -

obviamente- demasiados conocimientos *moleculares* acerca de los virus. El mecanismo por medio del cual obtenían la resistencia buscada era contaminando las plantas con variedades atenuadas de virus, a la manera de las técnicas de vacunación. Por supuesto, el fenómeno difería de la resistencia conferida por las vacunas, puesto que las plantas carecen de sistema inmunológico. Los resultados obtenidos, pese al enorme esfuerzo que implicaban, no eran todo lo consistentes que eran de desear.

Cuarenta años después, hacia mediados de la década de los ochentas, el desarrollo de la ingeniería genética basada en el conocimiento de la estructura molecular de genes y virus, brindaría las herramientas teóricas para emprender bajo otras bases dicha resistencia. Las primeras investigaciones exitosas en este nuevo campo de estudios fueron las que lograron proteger a las plantas de tabaco de la enfermedad virósica denominada *mosaico del tabaco*, que afecta, además de a éste, al tomate, la remolacha, la espinaca, entre otros vegetales.

La metodología consistía en obtener una planta transgénica que portara un gen proveniente del mismo virus ante el cual se buscaba hacerla resistente -noción que semeja una variante genética de las conocidas técnicas de vacunación-. El fin buscado se logró introduciendo en el material genético de la planta el gen que hace que el virus produzca la capa de proteínas que lo recubre.

Se han esbozado diversas hipótesis para explicar la aparición de la resistencia, sin que hasta el momento se conozca con certeza cuál es la más adecuada. Una de ellas -probablemente la más plausible- sostiene que el mecanismo actuaría sería el siguiente: puesto que la papa, ahora en posesión de este gen, produce grandes cantidades de la capa de proteínas, y consistiendo el primer paso del virus en el proceso de infección en despojarse de dicha capa para poder llevar adelante su multiplicación en las células de la planta, la abundancia allí de estas capas se lo impide.

El éxito obtenido abrió un camino que prontamente fue seguido por otros grupos de científicos, que buscaron repetir el hallazgo en otras plantas, con otros virus.

El grupo de Ingeniería Genética Vegetal del INGEBI continúa este modelo de investigación -este paradigma de ingeniería genética para vegetales-. La estrategia consiste en aislar ese mismo gen en el virus que infecta la papa, e implantarlo produciendo un ejemplar transgénico, en el supuesto que de esta manera lograrían la protección buscada. El éxito era previsible, puesto que ya se habían obtenido -en laboratorios de países desarrollados- papas transgénicas resistentes a virus. El desafío era producir resultados consistentes en variedades sembradas en la región, con los virus que las infectaban aquí.

Curiosamente, la ingeniería genética había logrado hacia 1983 vacunas contra la hepatitis A y B -propias de mamíferos, mas no de plantas-, continuando también de otra manera los mecanismos tradicional. La táctica es similar a la que hemos descrito, y al igual que ella, está basada en que los virus son organismos extremadamente simples, constituidos únicamente por una pequeña cantidad de material genético -ADN-encapsulada por una cubierta de proteínas. Consistía en introducir en bacterias el gen específico para esa cubierta de proteínas haciendo que éstas las fabricaran. Cuando posteriormente eran inyectadas a animales de experimentación, el sistema inmunológico las trataba como si portaran el virus completo, produciendo anticuerpos contra él, con la salvedad de que al no estar presente el núcleo de ADN desaparecía el peligro de contagiar al enfermedad junto con la vacuna. Hacia 1986, experiencias piloto en seres humanos reproducían los resultados obtenidos en animales.

Por supuesto, ya que las plantas carecen de sistema inmunitario, el mecanismo debía ser otro.

¿A QUE SE DENOMINA TRANSGENICO?

La ingeniería genética -mediante técnicas adecuadas- consigue aislar trozos de genes -ADN- e insertarlos en otro organismo. El gen que pasa de un espécimen a otro se denomina *transgen*, y el organismo que resulta de su adición, *transgénico*.

En principio, como en todas las formas vivas el material genético está constituido de la misma manera, es posible insertar un gen no sólo dentro de la misma especie, sino en una especie cualquiera, sea animal o vegetal. Las primeras experiencias se hicieron utilizando como huésped del *transgen* a organismos unicelulares, como las bacterias. Ahora bien, si se pretende insertar un gen en un organismo complejo, tal como ratones, conejos o ovejas, se lo hace en la célula que resulta de la fusión del material genético de ambos progenitores, antes de que se comience a dividir para dar origen al animal completo. Cuando se procede de esta manera, cada célula del animal contiene el transgen injertado.

Es necesario señalar que el gen implantado en un organismo huésped, cumple la misma función que en el de origen, es decir, que si allí hacía que fabricara insulina, también lo fabricará el nuevo.

Esta propiedad hace que el procedimiento no sea una simple curiosidad de laboratorio, sino un poderoso instrumento tanto de la investigación básica como de la aplicada y tecnológica. Por un lado, es una herramienta indispensable para explorar la estructura funcional de los genes, puesto que la observación del efecto que provoca en el organismo transgénico -antes inexistente o de menor cuantía-, habla de su función. Por otro lado, sabiendo ya qué efecto causa, es posible hacer que un organismo dado produzca algo para lo que primitivamente no estaba diseñado. Y esto se puede utilizar en un proceso de producción. Hormonas humanas, antibióticos, vacunas, proteínas comestibles, plantas y animales mejorados, combustibles, etc., son algunas de las posibilidades que se encuentran ya disponibles mediante este procedimiento.