

PILAR CARBONERO ZALDUEGUI
FRANCISCO GARCÍA OLMEDO

LAS PLANTAS EN SU ENTORNO



INSTITUTO DE ESPAÑA

MADRID, 2003



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID



0200159714

PILAR CARBONERO ZALDUEGUI
FRANCISCO GARCÍA OLMEDO

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID	
E.T.S.I. AGRÓNOMOS	
BIBLIOTECA	
FECHA ENTRADA	21-6-2004
Nº REGISTRO	34.122
SIGNATURA	631 SZ CAR. PIA
PRESTAMO	

LAS PLANTAS EN SU ENTORNO

Ciclo de Conferencias
3-6 noviembre



INSTITUTO DE ESPAÑA

Madrid, 2003

Depósito legal: M. 47.833-2003

Realigraf, S.A. – Pedro Tezano, 26. 28039 Madrid

ÍNDICE

	<i>Págs.</i>
1. LA NUEVA VISIÓN DEL MUNDO VEGETAL	7
INTRODUCCIÓN	7
UNA PERSPECTIVA HISTÓRICA	8
La etapa neolítica	8
La etapa precientífica	9
En los albores del siglo XX	10
Hacia la mitad del siglo XX	11
LA ÚLTIMA REVOLUCIÓN	13
Organismos transgénicos	14
Métodos	15
Estrategias	16
NUEVAS APLICACIONES	16
2. LAS PLANTAS Y SU ENTORNO BIOLÓGICO	19
INTRODUCCIÓN	19
SIMBIONTES	21
Micorrizas	21
Fijación simbiótica de nitrógeno	21
PATÓGENOS Y SU CONTROL	22
Virus y Viroides	23
Bacterias patógenas	23
Hongos patógenos	23
Nematodos	24

	<u>Págs.</u>
Mecanismos de defensa	24
Métodos de lucha	25
Control genético de la resistencia	26
Resistencia por Ingeniería Genética	27
PLAGAS Y SU CONTROL	28
Mecanismos de defensa	28
El uso de plaguicidas	29
Plantas transgénicas resistentes a insectos	30
MALEZAS Y SU CONTROL	31
Métodos de control	32
Plantas transgénicas tolerantes a herbicidas	33
CONCLUSIÓN	34
3. LAS PLANTAS Y SU ENTORNO FÍSICO	35
INTRODUCCIÓN	35
EL SUELO Y SU COMPOSICIÓN	36
Acidez y alcalinidad	36
Minerales y oligoelementos	37
EL AGUA Y SU DISPONIBILIDAD	38
Déficit hídrico	39
Inundación	40
EL AIRE Y EL ESTRÉS OXIDATIVO	41
RESPUESTA A ALTAS TEMPERATURAS	41
MEJORA DE LA RESISTENCIA AL ESTRÉS HÍDRICO ..	41
MEJORA PARA EL USO EFICIENTE DE LOS NU- TRIENTES	42
CONCLUSIÓN	43
4. LAS PLANTAS EN SU ENTORNO SOCIAL	45
INTRODUCCIÓN	45
AGROALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE	46
Respuesta a los dos retos principales de la agricultura ..	47
Otros objetivos tradicionales	49

	<u>Págs.</u>
Nuevos objetivos	49
Remediación de contaminantes elementales	53
Remediación de contaminantes orgánicos	53
Entre el concepto y la aplicación	54
BIOSEGURIDAD	56
Seguridad para los humanos	56
Flujos génicos	57
Seguridad para el medio ambiente	59
El concepto de «equivalencia sustancial»	60
La evaluación en la práctica	60
BIBLIOGRAFÍA	63
AUTORES	65

1. LA NUEVA VISIÓN DEL MUNDO VEGETAL

INTRODUCCIÓN

En el ámbito tecnocientífico, el final del siglo XX viene marcado por dos revoluciones, una biológica y otra informática. La biológica se apoya en dos pilares: la capacidad de leer genomas completos de los seres vivos y la de transferir genes por ingeniería genética, más allá de las barreras sexuales de la especie.

En las aplicaciones de la ingeniería genética a las plantas cultivadas se han realizado mayores progresos que en las relativas a los animales, a pesar de que el problema de la transformación se resolvió antes en los animales que en las plantas. En la actualidad, se cultivan plantas transgénicas en unos 60 millones de hectáreas, distribuidas por una docena de países. Este avance se ha dado en las plantas porque se prestan más fácilmente que los animales a las alteraciones transgénicas, al ser organismos menos integrados funcionalmente y más plásticos desde el punto de vista genético.

Los últimos avances científicos y técnicos que se han incorporado a este proceso son el resultado de los nuevos conocimientos sobre las plantas que han propiciado la biología molecular y las posibilidades experimentales que ofrece la ingeniería genética vegetal. Los métodos moleculares no han de sustituir a la ya madura tecnología establecida sino que la complementan y le confieren nuevas posibilidades de aplicación. Antes como ahora, lo relevante es la naturaleza de la alteración genética introducida —la característica modificada— y no el método empleado para conseguirlo.

UNA PERSPECTIVA HISTÓRICA

La etapa neolítica

La domesticación de las especies vegetales que hoy cultivamos fue el elemento culminante de la invención de la agricultura, invento que supuso el ensamblaje de aportaciones técnicas muy diversas. Para poner ciertas especies silvestres bajo su dominio, el ser humano debió introducir cambios sustanciales en los genomas de éstas. Dichos cambios fueron *contra natura* desde el principio, hasta el punto de que las especies domesticadas perdieron su capacidad de vivir por sí solas en la naturaleza y, en este sentido, dejaron de ser «naturales».

Las alteraciones genéticas introducidas afectaron a caracteres de interés agronómico fundamental, cada uno de ellos dependiente de uno o pocos genes: semillas que no se dispersan en la madurez y que germinan de modo uniforme; frutos y semillas de mayor tamaño y maduración uniforme; o plantas de porte erecto. Algunos de estos caracteres fueron los que afectaron de forma severa a la posibilidad de supervivencia en vida libre de la especie domesticada.

Así por ejemplo, un cereal cuya espiga no disperse la semilla en la madurez (raquis tenaz) o una leguminosa que tenga dañado el mecanismo automático de apertura de la vaina al madurar son susceptibles de ser recolectadas, pero al mismo tiempo tienen severamente menguada su posible supervivencia en el medio natural porque ésta depende de una eficaz diseminación de la descendencia. Algo similar ocurre si las semillas tienen dañado el mecanismo de dormancia que determina su germinación escalonada: germinan sincrónicamente, a gusto del agricultor, pero son en extremo vulnerables en vida libre, ya que una primera humedad a destiempo puede acabar con su estirpe.

La domesticación alteró también las propiedades moleculares de los alimentos recolectados. En efecto, los frutos, semillas, raíces y tubérculos de las especies silvestres no parece que fueran creados para el sustento de la especie humana, a juzgar por las altas concentraciones de sustancias tóxicas e inhibitorias que poseen. Los humanos primitivos ya sabían que «natural» no es sinónimo de bueno o inocuo. Así por ejemplo, la patata domesticada tiene bloqueada la ruta de síntesis de un alcaloide tóxico que en la silvestre se acumula a razón de un gramo por kilogramo de peso fresco.

Se operó en todos los casos sobre alteraciones accidentales de los genes, llamadas mutaciones, que, al ser deletéreas, no hubieran perdurado en la descendencia sin el concurso del hombre. Mucho más tarde se aprendería a favorecer la aparición de dichas mutaciones mediante agen-

tes físicos o químicos (radiaciones, mutágenos) y recientemente, gracias a la ingeniería genética, se ha logrado dirigirlas con gran precisión. Con independencia de la forma de obtenerla, el resultado de una mutación es la alteración de un gen y, por tanto, del carácter que éste determine.

La etapa precientífica

Los mismos procedimientos genéticos que posibilitaron la domesticación sirvieron para introducir cambios adicionales en el genoma que mejoraron la aptitud para el cultivo y la adaptación de la especie doméstica a nuevos habitats. Así por ejemplo, la patata se importó por los españoles a Europa hacia 1570, pero tardó casi tres siglos en convertirse en una de las cosechas fundamentales del continente. Para implantarse en Europa, esta cosecha no sólo debió vencer los temores irracionales de sus habitantes, que preferían morir de hambre antes que consumirla, sino que debió someterse a alteraciones genéticas significativas: hubo de ser adaptada al régimen de día largo y a las condiciones de cultivo de los distintos sistemas agrícolas europeos.

A finales del siglo XVIII, existían unas cuarenta variedades de patata en Europa que diferían entre sí en caracteres tales como el tamaño y la forma del tubérculo, la pigmentación de la flor y de la piel del tubérculo, la maduración temprana o tardía, buenas o malas propiedades de almacenamiento e incluso la susceptibilidad a ciertas enfermedades. Toda esta variabilidad tenía como punto de partida un repertorio genético muy reducido, ya que fueron muy pocas las plantas (genotipos) importadas de América.

En el curso del siglo XVIII se generaliza el intercambio de material vegetal y el aprecio de las mejores variedades, tanto de especies leñosas como de herbáceas. Siguiendo con el mismo ejemplo, los mismos cultivadores descubren el inconveniente de producir la patata de siembra en su propia explotación y las ventajas de importar material sano desde zonas apropiadas. Estas circunstancias estimulan dos actividades fundamentales para la mejora vegetal: la aplicación a ésta del método científico y el comienzo de una actividad comercial importante basada en ella.

En 1727 se creó la empresa de semillas Vilmorin en Francia, que ha perdurado hasta nuestros días. Louis de Vilmorin, miembro de la familia fundadora, ideó la prueba del pedigrí, método de evaluación de genotipos o de variedades, basado en los rendimientos de sus descendencias, que habría de dar excelentes resultados. Entre los logros importantes basados en este método destaca la mejora de la remolacha azucarera durante el periodo napoleónico.

El alemán Margraff observó en 1747 la presencia de azúcar (sacarosa) en las raíces de la remolacha, y su discípulo Achard desarrolló el procedimiento para su extracción industrial. Además, este último sometió a selección la variedad forrajera Blanca de Silesia, elevando su contenido en azúcar del 6 al 11 por ciento. Introducida esta variedad en Francia a principios del siglo XIX, los Vilmorin lograron elevar dicho contenido hasta el 16 por ciento mediante la aplicación del método del pedigrí.

La introducción de la hibridación en la mejora tuvo una enorme trascendencia porque supuso una forma de aumentar grandemente la variabilidad a partir de la cual se selecciona. En efecto, a partir de dos variedades —que han ido acumulando alteraciones genéticas por las infrecuentes mutaciones espontáneas— pueden generarse por hibridación una enorme gama de nuevas combinaciones de dichas mutaciones (no es éste el lugar de explicar cómo ocurre lo que se denomina recombinación). Entre las nuevas combinaciones pueden seleccionarse aquellas que posean mejores propiedades agronómicas. Esta forma de generar variabilidad genética sigue siendo el motor de la mejora vegetal al cabo de más de dos siglos.

En los albores del siglo XX

En la segunda mitad del siglo XIX ocurre el descubrimiento de las leyes que rigen la segregación de caracteres en la descendencia de los híbridos, la formulación de las hipótesis evolucionistas y la identificación de los cromosomas como sedes de la información genética. Bien entrado el siglo XX se culmina la gran síntesis mendeliano-darwiniana que vertebra la biología moderna.

Estos avances científicos tardaron mucho en influenciar las técnicas de la mejora vegetal, tecnología cuyo indudable éxito hace al que la practica un técnico conservador y poco abierto a la novedad hasta que por fin la biología moderna acabó influenciando la mejora vegetal a mediados del siglo XX. La mejora artificial de las plantas ha consistido desde su mismo origen en la imitación por el mejorador del proceso evolutivo natural.

En un principio, la mejora había aprovechado la diversidad existente mediante la selección artificial, y sólo en el periodo premendeliano había incidido con timidez en el proceso de creación de diversidad. La mejora vegetal moderna, según Borlaug, consiste en la introducción consciente de diversidad genética en las poblaciones —por cruzamiento de progenitores con características sobresalientes y complementarias— y en la selección de plantas con genes que confieren los caracteres agronómicos de-

seados, hasta alcanzar niveles altos de adaptación, uniformidad genética y estabilidad agronómica.

Los objetivos de la mejora vegetal han sido siempre los mismos: aumentar el rendimiento y mejorar la calidad nutritiva y tecnológica de los productos agrícolas. El rendimiento máximo de una especie cultivada es el de la mejor variedad, en el suelo más adecuado, el año más favorable, y está muy por encima del rendimiento medio que se alcanza en la práctica. Los rendimientos medios de las principales cosechas representan menos del 22 % de sus rendimientos récord. La diferencia se debe sobre todo a los factores ambientales adversos, tales como la competencia de las malas hierbas, los suelos no óptimos y las condiciones meteorológicas desfavorables, así como a los efectos de plagas y enfermedades, causadas por insectos y microorganismos, respectivamente. La mejora se orienta con prioridad a obtener plantas menos vulnerables a factores adversos del suelo y del clima (plantas con mayor adaptabilidad), así como más resistentes a plagas y enfermedades, que al incremento del rendimiento potencial (rendimiento en condiciones óptimas).

Los métodos concretos aplicados a la mejora de una especie dada dependen de su forma de reproducción y propagación. Muchas de las plantas cultivadas se reproducen sexualmente y se propagan por semillas, mientras que algunas se propagan mediante la plantación de partes vegetativas o por injerto.

La mejora genética de los cereales —maíz, trigo y arroz, que se reproducen sexualmente— ha permitido mantener el incremento de la producción de alimentos por delante del crecimiento demográfico en la segunda mitad del siglo. El maíz es una planta de polinización cruzada o alógama, mientras que el trigo y el arroz son plantas autógamias, que se autofecundan.

Hacia la mitad del siglo XX

El político norteamericano H. R. Wallace creó en los años 20 la primera empresa de semillas híbridas de maíz, Pioneer Inc. Esta empresa se originó para explotar el vigor híbrido o heterosis, que es el aumento del vigor y del rendimiento que se produce en un híbrido con respecto a sus progenitores.

Las variedades tradicionales, que permitían al agricultor usar como semilla el grano cosechado por él, acabaron desapareciendo ante los rendimientos superiores de las variedades híbridas, cuya semilla debía comprarse cada año. Los costes de producción de semilla híbrida disminuyeron de forma notable como resultado de dos innovaciones técnicas: los

híbridos dobles, obtenidos a partir de dos híbridos sencillos (a partir de 4 líneas puras), y la manipulación genética de la esterilidad masculina (androesterilidad), que ahorraba la mano de obra necesaria para la eliminación manual de la flor masculina.

Las nuevas variedades de maíz daban mayores rendimientos, eran más resistentes a plagas y enfermedades y tenían un tallo corto y robusto que permitía cosechar de forma mecánica. En algunas zonas productivas de Estados Unidos, los rendimientos medios obtenidos por los agricultores se fueron aproximando a los obtenidos en las estaciones experimentales. Los agricultores debían comprar cada año la semilla híbrida, ya que la semilla producida por el híbrido no es homogénea, pero se veían compensados de forma clara por el incremento del rendimiento.

No se han desarrollado variedades híbridas de trigo por dos circunstancias: la hibridación manual es costosa en extremo (comercialmente imposible), ya que se han de eliminar con unas pinzas tres anteras por cada flor de las numerosas que forman cada espiga, y un alopoloide como es el trigo, al incorporar más de un tipo de genoma, es como si fuera un híbrido permanente, por lo que no cabe esperar tanta heterosis como en el maíz. La hibridación manual se ha empleado en el trigo sólo para crear diversidad.

Norman E. Borlaug, en el Centro Internacional de Mejora de Maíz y Trigo (CIMMYT) en Méjico, habría de llevar la mejora de esta especie a sus más altas cimas, labor que fue reconocida con la concesión del premio Nobel de la Paz en 1970. La aportación de Borlaug incidió en el rendimiento potencial, al conseguir unas variedades semienanas con alto índice de cosecha, y afectó a la capacidad de adaptación de las nuevas variedades a condiciones agronómicas muy diversas.

Hasta entonces se consideraba un dogma de la mejora vegetal que para obtener variedades bien adaptadas y de alto rendimiento había que hacer la selección en las mismas localidades donde iban a ser cultivadas. Imprevisiblemente, Borlaug refutó este dogma con sus resultados experimentales. Con objeto de acortar de 8 a 4 años el tiempo necesario para obtener una nueva variedad, este investigador decidió realizar dos ciclos completos de mejora por año. Para ello, eligió en Méjico dos campos experimentales de características muy distintas, separados entre sí por 10° de latitud (diferentes en la duración del ciclo día/noche) y por 2.600 metros de altitud. Las variedades obtenidas —seleccionadas por su buen rendimiento en dos ambientes tan dispares— resultaron ser capaces de dar altos rendimientos no sólo en Méjico, sino también en una variada gama de suelos y climas de todo el mundo, algo que hasta entonces se consideraba imposible.

La mejora del arroz se realizó a partir de 1958 de modo similar al trigo en el International Rice Research Institute (IRRI; Los Baños, Filipinas). Las variedades de alto rendimiento poseían caracteres bien concretos: ciclo corto (posibilidad de dos cosechas por año), floración independiente de la duración del día, talla semienana, resistencia a las plagas y enfermedades predominantes y buenas propiedades culinarias.

LA ÚLTIMA REVOLUCIÓN

La rapidez de los cambios introducidos por los nuevos avances de la biotecnología en general y de la aplicada a las plantas, en particular, han perturbado el buen uso del lenguaje. Denominaciones tales como organismos genéticamente modificados (OGMs), alimentos transgénicos, ingeniería genética, ADN recombinante, transferencia génica, clonación, alimentos naturales, mejora genética e, incluso, biotecnología han aparecido en el lenguaje cotidiano de forma desordenada e inexacta, lo que hace precisas algunas aclaraciones pertinentes.

La definición de biotecnología abarca a todas las tecnologías mediadas por un ser vivo o por partes de él, sean éstas células o enzimas aisladas. Bajo esta definición se incluyen desde la propia agricultura, inventada hace diez milenios, y la inmemorial fabricación de la cerveza, hasta la última forma de producir insulina humana en microorganismos genéticamente modificados. No es apropiado, por tanto, usar el término de forma restringida para referirse exclusivamente a los últimos avances basados en la biología molecular. Para esto último resulta más adecuado el uso de la expresión «biotecnología molecular», concepto que cubre todas las tecnologías asociadas al manejo del ADN en el tubo de ensayo.

Prácticamente todo el alimento que consumimos ha sido genéticamente modificado. La domesticación de plantas y animales supuso una alteración muy drástica de sus genomas y la mejora genética subsiguiente ha ido añadiendo modificaciones extensas y sustanciales. La ingeniería genética es sólo un método más —una modalidad más de mejora genética— y sólo sirve para modificar uno o pocos genes de forma muy selectiva. No serviría para obtener razas de perro tan distintas —en su tamaño, morfología y temperamento— como el chihuahua y el pit bull terrier, que en cambio han surgido de la mano del hombre gracias a los métodos genéticos más tradicionales. En consecuencia, resulta absurdo denominar OGMs sólo a los productos de la ingeniería genética para contraponerlos a los supuestamente «naturales».

Ya hemos indicado que nada de lo que consumimos es natural, debido a que la mayoría de los organismos de los que derivamos nuestro

alimento han perdido su capacidad de sobrevivir en vida libre. Es más, han debido sufrir alteraciones genéticas que les eliminan sustancias naturales que son tóxicas o inhibitorias para el ser humano. Una variedad moderna, modificada por ingeniería genética, está tan lejos de ser natural como las que la precedieron. ¡Por fortuna! Ya que —insistimos— natural no es sinónimo de inocuo.

Organismos transgénicos

Son organismos transgénicos aquéllos cuyo genoma ha sido alterado por ingeniería genética o, si se prefiere, por sastrería genética, ya que las operaciones fundamentales de esta vía experimental consisten en cortar y coser (unir) piezas de ADN. Un gen es un tramo de ADN (una secuencia construida con las bases A,T,G,C) que, en general, determina una proteína (una secuencia de aminoácidos), de acuerdo con las equivalencias plasmadas en la clave genética. Mediante la nueva tecnología se puede alterar un genoma por la adición de uno o varios (pocos) genes que previamente no formaban parte de él o por la inutilización de uno o varios genes entre los ya existentes. Estas operaciones se hacen para conferir caracteres deseables y para eliminar caracteres indeseables del organismo, respectivamente, objetivos que no difieren de los de la mejora genética tradicional.

En lo que sí difieren la vieja y la nueva tecnología es en el repertorio génico que se puede manejar —genes de la misma especie, en el caso de la vieja, y de cualquier especie, en el de la nueva— y en el modo de introducir y transferir la modificación genética, por vía sexual o por adición exógena (transformación), respectivamente. Los organismos modificados por transformación se suelen denominar transgénicos. Llamar transgénicos a los alimentos derivados de dichos organismos resulta menos apropiado. Por ejemplo, es absurdo llamar transgénico al azúcar procedente de una remolacha transgénica, ya que es un producto químico puro, esencialmente indistinguible del aislado de la remolacha normal o de la caña de azúcar.

Al principio de los años 50, Watson y Crick confirmaron la naturaleza molecular del material genético, iniciando así el desarrollo de la biología molecular que dos décadas más tarde alumbraría métodos para aislar genes, para determinar su secuencia de bases, para recomponerlos en el tubo de ensayo y para devolverlos a una célula viva del mismo o de distinto organismo del inicial. El problema de introducir genes foráneos en plantas (transformación) no se resolvió hasta 1982, en el Laboratorio de Genética de la Universidad de Gante, gracias a Mark Van Montagu y

Jeff St. Schell, en competencia con la norteamericana Mary Dell Chilton y con la empresa Monsanto.

Métodos

Se sabía desde antiguo que la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* inducía tumores en el tallo de muchas plantas y se suponía que lo conseguía por influencia externa de alguna sustancia que ella misma fabricaba. Van Montagu y Schell lograron demostrar que la bacteria introducía un trozo de su propio ADN en la célula vegetal, que este ADN se integraba en un cromosoma de dicha célula y, finalmente, que los genes incluidos en el ADN transferido se expresaban. Una vez resuelto este problema, inventaron cómo alterar la bacteria para que introdujera en la célula vegetal cualquier gen de interés.

Para crear una planta transgénica es preciso integrar una pieza apropiada de ADN en el genoma de una célula y después regenerar una planta completa a partir de dicha célula. Al contrario de otros tipos de organismos, las plantas tienen la singularidad de que sus células son totipotentes (capaces de regenerar el organismo completo) si se las cultivan en medios adecuados. La introducción de ADN foráneo (transformación) y posterior regeneración es fácil en algunas especies, tales como tomate, patata, tabaco, colza o la antes mencionada *Arabidopsis thaliana*, mientras que algunas plantas de gran cultivo, tales como trigo, cebada, maíz y arroz, son más difíciles de transformar y requieren considerable experiencia en el cultivo de tejidos. Una vez integrados, los genes se transmitirán a la descendencia del mismo modo que lo hacen los que componen el genoma original.

Para transformar aquellas especies más refractarias al método del *Agrobacterium* se han desarrollado métodos que permiten introducir ADN de forma directa en cualquier célula. Entre estos, merece mención especial el llamado método biolístico o de microbombardeo. Partículas microscópicas de oro o wolframio se revisten con el ADN que se quiere introducir y luego se depositan en la punta de una bala macroscópica. El conjunto se acelera por pólvora, por descarga eléctrica o por helio a presión en un dispositivo, que vulgarmente llamamos la pistola génica, y la bala macroscópica es parada por un tope a la salida del cañón, el cual interrumpe su camino pero no impide que los microproyectiles sigan el suyo hasta penetrar en el tejido vegetal expuesto. Estas partículas recubiertas de ADN atraviesan la pared y la membrana celulares, introduciéndose en la célula sin afectar su viabilidad.

Estrategias

Sabemos que un gen es un tramo de ADN (una secuencia de bases) que, en general, se traduce en una proteína (una secuencia de aminoácidos), de acuerdo con las equivalencias plasmadas en la clave genética. No todo el tramo de ADN al que llamamos gen en términos moleculares se traduce; sólo lo hace una región que denominamos codificante. Esta región está precedida por otra no transcrita, que se designa promotor, y seguida por un tramo donde residen las señales de terminación.

En la región codificante —que en organismos superiores puede ser discontinua— reside la información que determina la estructura del producto génico (proteína), mientras que en el promotor se concentran la mayor parte de los receptores informáticos del gen, los cuales determinan en qué células se ha de fabricar la proteína que codifica, en qué período del desarrollo del organismo (o en respuesta a qué estímulo externo) y en qué cantidad.

Los genomas de los organismos superiores se componen de decenas de miles de genes y de una proporción variable de ADN repetitivo para el que no se ha encontrado una función. El conocimiento completo de un genoma implica la determinación de la secuencia de bases de todo el ADN que lo compone. Un genoma vegetal puede tener un tamaño entre 150 y 16.000 millones de bases y contener entre 20.000 y 30.000 genes.

Aparte de la investigación de los promotores génicos, interesa la de las piezas de la maquinaria celular que son las proteínas, cuyas estructuras están determinadas por las partes codificantes de los genes. Se siguen dos estrategias principales: bloqueo del gen para examinar las consecuencias de la ausencia de la proteína correspondiente y, alternativamente, hacer que aparezca la proteína de interés en una célula o tejido donde antes no estuviera presente —alterando convenientemente el promotor— para averiguar los efectos de dicha presencia. Estas estrategias no sólo son básicas para los avances del conocimiento botánico sino también para la mejora genética molecular: para añadir caracteres de interés o para eliminar caracteres perjudiciales en una variedad cultivada. Examinemos los objetivos de la mejora molecular.

NUEVAS APLICACIONES

Antes del desarrollo de la ingeniería genética, el mejorador forzaba la generación de variabilidad y luego descartaba la mayor parte de las variantes generadas, seleccionando sólo una mínima fracción de ellas. Ahora se trata de aumentar la variabilidad de la planta de interés mediante

la adición o alteración de unos pocos genes elegidos *a priori*, por lo que se hace innecesaria, o se reduce en extremo, la selección posterior.

Ya hemos dicho que los métodos moleculares de mejora no sustituyen a los mendelianos sino que los complementan. En general se parte una variedad productiva obtenida por los métodos tradicionales para abordar la mejora molecular. Las técnicas de la mejora clásica siguen siendo óptimas para el manejo de caracteres que dependen de muchos genes, como, por ejemplo, el rendimiento potencial, mientras que las de ingeniería genética ofrecen indudables ventajas para la mejora de caracteres que dependen de uno o pocos genes, como ocurre con la resistencia genética a plagas y enfermedades.

Respecto a los objetivos de la mejora, en la nueva etapa se siguen asumiendo los de las etapas anteriores, pero se abre la posibilidad de plantear otros nuevos que no se podían abordar con las técnicas clásicas. Entre los objetivos heredados hay que distinguir los que responden a los retos fundamentales de la agricultura —que, recordemos, debe ser más productiva y más limpia— de los que responden a otras demandas sociales, sean de la industria o de los consumidores.

Entre los objetivos nuevos se incluyen todos aquellos que implican la introducción de genes que proceden de fuera del reino vegetal para obtener aplicaciones o productos distintos de lo tradicionales: nuevos productos industriales no alimentarios —como por ejemplo, plásticos biodegradables— que pueden suponer una significativa demanda potencial de suelo laborable; productos farmacológicos, de alto valor añadido y baja demanda de suelo; plantas útiles para la descontaminación ambiental (fitoremediación) o para otras aplicaciones medioambientales. Se ha progresado en distinto grado para los distintos objetivos propuestos: mientras que en unos casos se ha aprobado el uso comercial de variedades transgénicas, en otros se está en fase de laboratorio, de ensayo de campo o no se ha pasado del terreno de la hipótesis.

2. LAS PLANTAS Y SU ENTORNO BIOLÓGICO

INTRODUCCIÓN

Entre los recientes avances del conocimiento del mundo vegetal, ocupa un lugar preeminente el relativo a las interacciones de las plantas con otros seres vivos (Tabla 2.1). Este avance, aunque incipiente, ya ha

TABLA 2.1. *Las plantas cultivadas y su entorno biológico.*

<i>Tipos de organismos que interactúan con las plantas</i>	<i>Efectos beneficiosos</i>	<i>Efectos adversos</i>
HUMANOS	Cuidados culturales	Dstrucción total o parcial
OTROS VERTEBRADOS	Aportación de agua	Necrosis foliar
INSECTOS	Abonado y cuidado del suelo	Manchas necróticas en distintos órganos y tejidos
ÁCAROS	Aportación nitrógeno (fijación)	Pardeamientos y desecaciones
NEMATODOS	Aportación de fosfato (micorizas)	Chancros y tumores
MALAS HIERBAS	Control de malas hierbas	Podredumbres secas
VIRUS	Control por competencia de organismos adversos	Podredumbres blandas
BACTERIAS		Raíces en anillo o en cabellera
HONGOS		
MICOPLASMAS		

conducido a interesantes aplicaciones que están protagonizando el despegue de los usos agrícolas de la nueva biotecnología vegetal. En concreto, más del 90% del área actualmente sembrada con plantas transgénicas corresponde a este ámbito de aplicación. Desde el punto de vista del conocimiento básico, la biología molecular ha arrojado luz sobre los mecanismos íntimos tanto de las interacciones beneficiosas como de las adversas.

Al menos tres tipos de microorganismos resultan beneficiosos para las plantas: los que establecen con ellas una relación de simbiosis (especialmente los Rhizobía, que fijan nitrógeno atmosférico), los que antagonizan a patógenos de plantas y, de modo más indirecto, los saprofitos que mineralizan y degradan la materia orgánica del suelo, aportando así nutrientes para la planta, tales como nitrógeno, fósforo o hierro.

Entre los microorganismos adversos a las plantas cultivadas se encuentra un cierto número de virus, bacterias y hongos que causan pérdidas importantes en las cosechas. Las plantas reconocen a los patógenos y responden mediante la inducción de mecanismos de defensa cuyos componentes empiezan a conocerse en cierto detalle. Algunos patógenos desarrollan estrategias para eludir estas barreras defensivas, y la gestión óptima de la lucha contra estos factores adversos requiere el concurso de prácticas agronómicas apropiadas, el prudente uso de productos fitosanitarios y otros agentes antifitopatogénicos, así como el aprovechamiento de las nuevas aportaciones de la ingeniería genética.

Las plagas de insectos y ácaros y las enfermedades causadas por los nematodos son responsables de pérdidas de cosecha de hasta el 20% a escala global. Entre las estrategias básicas para evitar estas importantes pérdidas hay que incluir las siguientes: siembra de variedades resistentes, uso de plaguicidas naturales y sintéticos, fomento de organismos que antagonizan a los deletéreos (control biológico) y prácticas agronómicas apropiadas. De nuevo, en este ámbito, la biología molecular está permitiendo analizar las respuestas de las plantas, y la ingeniería genética ha provisto ya interesantes soluciones prácticas.

Las plantas cultivadas compiten con las malezas por el suelo agrícola, la luz y los nutrientes, de modo que el control de estas últimas es esencial para la obtención de rendimientos óptimos. Dicho control consume buena parte de la energía, la mano de obra y los productos químicos requeridos en la producción de alimentos. La nueva biotecnología ha aportado ya brillantes soluciones a la reducción de malezas en el campo de cultivo.

En ésta conferencia trataremos de ilustrar los mencionados avances en el conocimiento básico y en la solución práctica de los problemas causados por agentes bióticos en la producción agrícola. Para ello nos centraremos en algunos ejemplos relevantes.

SIMBIONTES

Las plantas pueden establecer relaciones simbióticas con ciertos microorganismos. Entre éstas cabe destacar la formación de 'micorrizas' y, sobre todo, la fijación simbiótica de nitrógeno atmosférico.

Micorrizas

Se llaman 'micorrizas' a asociaciones entre raíces en crecimiento e hifas fúngicas que dan lugar a una relación simbiótica por la cual el hongo facilita el acceso de nutrientes desde el suelo a la planta, a cambio de aprovechar los productos fotosintéticos que ésta les suministra. Aunque las micorrizas se conocen desde hace más de 1 siglo, sólo recientemente se ha podido demostrar el carácter simbiótico de la relación, que funciona en este sentido en suelos pobres en nutrientes, pero no en suelos ricos. Así por ejemplo, las hifas fúngicas captan más eficazmente que las raíces el fosfato —en un suelo pobre en fosfato— y se lo transfieren a la planta, de modo que las plantas con micorrizas crecen más vigorosamente en dicho tipo de suelos que las que no las tienen. Ciertas especies de pino son incapaces de crecer sin sus hongos asociados en ciertos hábitats distintos del nativo.

Fijación simbiótica de nitrógeno

Así como el fosfato y el potasio que necesitan las plantas proceden de las partículas de suelo, el nitrógeno, que las plantas absorben en forma de nitrato de la solución del suelo, procede en última instancia del fijado de la atmósfera por parte de distintos tipos de microorganismos (simbióticos o no) que son capaces de convertir el nitrógeno N_2 en amonio (NH_4^+) y eventualmente en nitrato (NO_3^-), que son utilizables por las plantas para la síntesis de sus propias macromoléculas.

La fijación simbiótica de nitrógeno tiene una enorme relevancia en la dinámica de los ecosistemas naturales y en la gestión del nitrógeno como nutriente en el suelo laborable. Dicha fijación la realizan unas bacterias capaces de vivir en vida libre que reciben el nombre colectivo de rizobios, aunque en realidad pertenecen a tres especies, cada una de las cuales se incluye en un género distinto. Gracias a la ingeniería genética se ha avanzado mucho en la elucidación del complejo mecanismo por el que se establece la relación simbiótica: planta y bacteria son capaces de percibir señales recíprocas que determinan la activación, también recí-

proca, de genes que codifican las piezas específicas del mecanismo simbiótico. La bacteria se une a un pelo radical e induce en éste un curvamiento que acaba englobándola, como paso previo a su penetración en el tejido vegetal mediante la degradación enzimática de las paredes celulares. En respuesta, la planta forma un tubo, dentro del cual las bacterias se multiplican y quedan confinadas, y eventualmente desarrolla un nuevo meristemo que dará lugar a lo que se denomina un nódulo. Las bacterias ya confinadas por una membrana adoptan la forma apta para la fijación de nitrógeno que se denomina bacteroide. Toda esta transformación requiere la activación de genes específicos tanto de la planta como de la bacteria, y el nódulo funcional permite que la bacteria fije nitrógeno atmosférico aprovechando la energía fotosintética aportada por la planta.

La interacción simbiótica es en general muy específica, de tal modo que una especie bacteriana sólo es capaz de nodular una o unas pocas especies de leguminosas. Dicha especificidad, que depende de las señales de reconocimiento, ha sido esencialmente esclarecida a nivel molecular.

Otros microorganismos del suelo —hongos y bacterias— son capaces de fijar nitrógeno atmosférico en vida libre, aunque cuantitativamente lo hagan con menos eficacia que los rizobios en simbiosis: <20 kg/ha/año frente a 50-200 kg/ha/año.

Desde el punto de vista biotecnológico, le revestimiento de las semillas es la vía preferida para introducir los inóculos de interés, incluidos aquellos que han sido modificados mediante ingeniería genética para una mayor eficacia en la promoción del crecimiento vegetal y del rendimiento. De todos modos la fijación de nitrógeno resulta costosa para la planta en términos de energía, por lo que el rendimiento por hectárea de biomasa comestible es inferior en las leguminosas simbióticas que en los cereales de gran cultivo, por lo que el papel de las primeras hay que cifrarlo en su contribución a la rotación de cultivos y a la estabilidad del ecosistema productivo.

PATÓGENOS Y SU CONTROL

Las enfermedades infecciosas en las plantas son causadas por un reducido número de virus, bacterias y hongos entre los cientos de miles de especies de microorganismos que existen en la naturaleza. Las interacciones entre patógenos y plantas son muy específicas y están restringidas por mecanismos de defensa pasiva y activa que en unos casos están activos de modo permanente y en otros se activan, previo reconocimiento del patógeno por la planta. Los patógenos pueden actuar en cualquier momento del desarrollo de la planta y causar desde daños meramente cosméticos hasta

la completa destrucción de la planta, tanto durante el periodo productivo como con posterioridad a la recolección. Para que se produzca una epidemia no basta con la presencia de un patógeno sino que se requieren también un hospedador susceptible y unas condiciones ambientales favorables. Una sola especie cultivada puede ser susceptible a un elevado número de enfermedades. Así por ejemplo, la lista de patógenos del arroz incluye 12 especies de virus, 7 de bacterias, 26 de hongos y 11 de nematodos.

Virus y Viroides

Los virus son partículas que consisten en un ácido nucleico (ADN o ARN) envuelto en una cápsida de proteína. Al poseer sólo unos pocos genes, carecen de todas las funciones necesarias para su multiplicación y dependen en gran medida de la maquinaria enzimática del hospedador para hacerlo. Esta circunstancia perturba el funcionamiento normal de la planta, causando pérdidas de cosecha, aunque rara vez resultan letales. Los viroides se reducen a una molécula de ARN que suele ser relativamente pequeña, por esto dependen exclusivamente del hospedador para multiplicarse. Los virus y viroides pueden penetrar en la planta por pequeñas heridas y a menudo se transmiten entre plantas por insectos que actúan de vectores.

Bacterias patógenas

Diversas especies de bacterias son capaces de causar enfermedades en las plantas y las pérdidas de cosecha se estiman en el 10-15% a escala global. Penetran en la planta por aperturas naturales o por heridas, y algunas de ellas producen enzimas que degradan las paredes celulares de las células epidérmicas, lo que facilita la infección. Unas bacterias producen manchas en frutos hojas y tallos, interfiriendo con la fotosíntesis y disminuyendo el valor comercial de los productos; otras causan devastadoras podredumbres blandas por maceración de los tejidos mediante las enzimas hidrolíticas que producen; y, finalmente, otras taponan el tejido vascular de la planta e inducen su marchitamiento.

Hongos patógenos

Ocho de cada 100 especies de hongos (unas 8.000) son patógenas para las plantas y pueden causar pérdidas muy severas en las cosechas.

Además producen sustancias químicas que pueden ser tóxicas o cancerígenas para el ser humano y los animales. Estas micotoxinas deben ser severamente controladas en la industria alimentaria. A menudo se transmiten por esporas vegetativas o sexuales que se transportan por el agua, el viento, los animales o el hombre. Casi todos los hongos patógenos cumplen parte de su ciclo en las plantas y parte en el suelo y en los desechos vegetales, aunque algunos son parásitos obligados de la planta hospedadora. Como en el caso de las bacterias, los hongos pueden infectar a través de aperturas naturales o pequeñas heridas, o bien forzar su entrada por degradación de la pared celular y otras barreras de defensa.

Nematodos

Ciertas especies de este tipo de organismos completan parte de su ciclo vital en plantas cultivadas y pueden ocasionar pérdidas severas en las cosechas. Aunque no son propiamente microorganismos sino animales de pequeñas dimensiones, sus efectos sobre las plantas cultivadas suelen considerarse enfermedades y no plagas. Los nematodos parasíticos tienen una afilada pieza bucal que les permite abrirse camino en los tejidos vegetales (típicamente los meristemos de la raíz), produciendo así la infestación de la planta. Los resultados de la infestación son de dos tipos morfológicos distintos: nudos tumorales en la raíz y quistes. Estos agentes patógenos persisten en el suelo durante años y causan pérdidas importante en los años más desfavorables.

Mecanismos de defensa

Entre los cientos de miles de organismos que podrían invadir un tejido vegetal y nutrirse de él, son contados los que tienen capacidad real de hacerlo en ciertas circunstancias, debido a que las plantas han desarrollado a lo largo de la evolución múltiples mecanismos de defensa. Estos mecanismos son de dos tipos: pasivos o activos. Los primeros suponen barreras físicas a la penetración de los patógenos: callosa, suberina, lignina y otros componentes de la pared celular. Los segundos son sustancias tóxicas o inhibitorias para otros organismos: toxinas, inhibidores, fitoalexinas, quitinasas, glucanasas, péptidos antimicrobianos y especies activas de oxígeno. Tanto las barreras pasivas como las activas pueden estar presentes de un modo permanente o ser inducidas en respuesta a la infección, previo reconocimiento de la proximidad del patógeno por parte de la planta. Este reconocimiento depende de receptores específi-

cos codificados por genes que en general se conocían de antiguo como 'genes de resistencia' y han venido siendo utilizados en mejora de plantas aunque hasta muy recientemente se desconociera su naturaleza molecular.

La respuesta de la planta a la infección es múltiple (Figura 2.1): se activan numerosos genes relacionados con las moléculas de defensa (péptidos, enzimas, compuestos fenólicos, saponinas y otros); se refuerzan cutículas y paredes celulares; se produce con frecuencia la llamada 'reacción hipersensible', que consiste una necrosis restringida al sitio de interacción con el patógeno y mediadora de algún modo de la contención de éste; producción de señales moleculares que se transportan local o sistémicamente para inducir mecanismos de resistencia en células distintas de la directamente amenazada.

La detección temprana del patógeno permite activar las defensas de la planta y aumentar las probabilidades de eludir la infección. Sin embargo los patógenos han desarrollado sus propios sistemas para resistir las reacciones hostiles de la planta y, en consecuencia, el proceso infectivo puede tener éxito tanto cuando el patógeno no es reconocido por el sistema de alarma de la planta como cuando, habiendo sido reconocido, el patógeno es capaz de resistir la respuesta de la planta. Este doble juego de la interacción patógeno con la planta ha empezado a esclarecerse en su detalle molecular sólo en tiempos muy recientes.

Métodos de lucha

Desde finales del siglo XIX se han venido descubriendo compuestos inorgánicos y orgánicos con propiedades antibióticas (antifúngicas y antibacterianas) que se han podido aplicar a la lucha química contra las enfermedades. Algunos de ellos han sido descartados al cabo del tiempo por los problemas de contaminación que pueden causar, problemas que pueden deberse a la falta de la especificidad necesaria y a su dificultad para ser biodegradados. Lo que se busca en la nueva generación de productos fitosanitarios son tres propiedades fundamentales: mayor actividad específica (mismo efecto con menos cantidad; gramos por hectárea en lugar de kilogramos por hectárea); mayor especificidad, para que afecten idealmente sólo al organismo que se quiere controlar; y que sean biodegradables, para que no se acumulen en el medio ambiente.

RUTAS DE SEÑALIZACIÓN EN DEFENSA VEGETAL

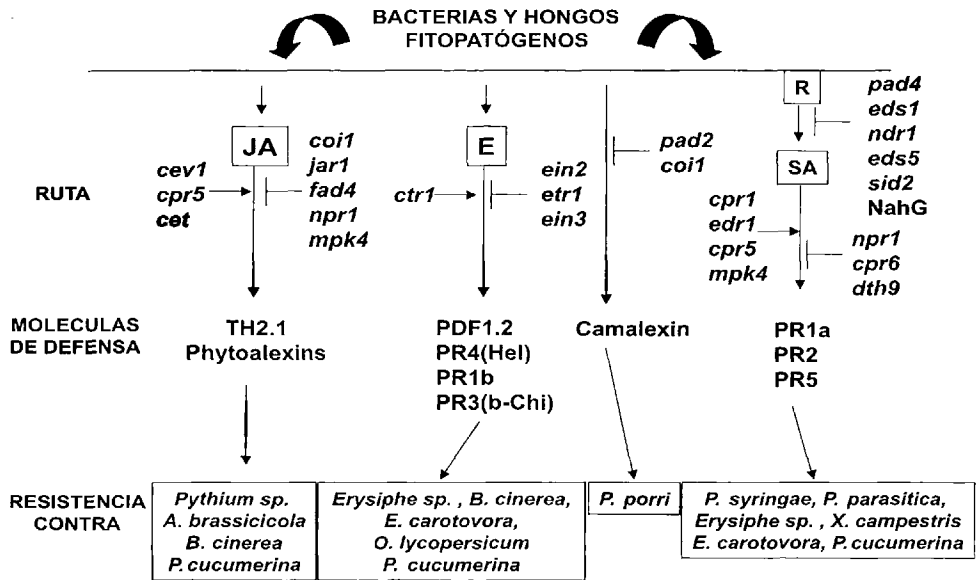


Figura 2.1.—La presencia de agentes fitopatógenos es detectada por la planta mediante receptores específicos que activan distintas rutas de transducción de señales que acaban induciendo las defensas de las plantas. Las mejor conocidas son aquellas en que actúan como mediadores el ácido jasmónico (JA) el etileno (E) o el ácido salicílico (SA). Estas rutas complejas están interconectadas y protagonizan distintas resistencias.

Control genético de la resistencia

La interacción entre la planta y el patógeno está sujeta a un proceso de coevolución según el cual el patógeno evoluciona hacia nuevas formas de vencer las barreras defensivas de la planta y la planta evoluciona contrarrestando las innovaciones agresivas del patógeno. Los mejoradores de plantas han tratado siempre de mantenerse por delante de los principales patógenos de cada especie mediante la incorporación de genes de resistencia procedentes del germoplasma disponible de la especie (otros cultivares; parientes silvestres), que en la actualidad se conserva en los bancos de germoplasma institucionales y en las colecciones académicas y de las empresas privadas. La resistencia frente a una determinada enfermedad conferida por los genes disponibles es en unos caso bastante duradera (puede usarse la variedad muchos años sin que las distintas cepas de

patógeno infecten el cultivar resistente), mientras que en otros casos es más lábil (la virulencia del patógeno evoluciona más rápidamente). En cualquier caso, sea cual sea el método de control de enfermedades que se adopte (lucha química, lucha biológica, resistencia genética, plantas transgénicas), la gestión de las pérdidas de cosecha causadas por las enfermedades es una tarea prometedora.

Resistencia por Ingeniería Genética

El conocimiento reciente sobre los mecanismos de defensa de las plantas frente a los patógenos y la no menos reciente disponibilidad de las técnicas de ingeniería genética han permitido introducir nuevos métodos para encontrar resistencia genética mediante la obtención de plantas transgénicas que incorporan genes apropiados, según distintas estrategias.

La aproximación más simple consiste en la sobre-expresión en la planta cultivada de uno o más genes que codifiquen proteínas antimicrobianas o enzimas que medien la síntesis de compuestos antimicrobianos. Aunque se ha demostrado en ensayos de campo que combinaciones de estos genes pueden ser eficaces, soluciones de este tipo no han alcanzado todavía la explotación comercial.

Una segunda estrategia consiste en la transferencia entre especies (por ejemplo, del pimiento al tomate) de los genes de resistencia tradicionales cuya caracterización molecular y clonaje se han logrado recientemente. En la mejora tradicional estos genes se manejaban como entes mendelianos dentro del ámbito restringido de cada especie. Por otra parte el conocimiento de estos genes permite el diseño y obtención de nuevas variantes para resolver problemas específicos.

Caso aparte es el del manejo de la resistencia a virus mediante ingeniería genética. La sobre-expresión constitutiva en la planta de ciertos genes del virus (por ejemplo, el que codifica para la proteína de la cápsida) interfiere de tal modo con la multiplicación normal del virus que protege a la planta frente a la infección. Aplicaciones de este tipo han alcanzado la fase comercial.

Otra forma de obtener resistencia a los virus consiste en manejar los mecanismos antivirales naturales. Si se hace producir a la planta un ARN relacionado con el virus que acabe formando doble cadena, la planta disparará un mecanismo de 'silenciamiento' de genes extraños que antagonizará la propagación del virus.

Es sabido que no se disponen de productos fitosanitarios activos frente a virus, por lo que las anteriores innovaciones tienen un enorme interés

práctico, junto a las pocas fuentes disponibles de resistencia genética, los métodos de cultivo y la lucha contra los insectos vectores de virus.

Finalmente, es importante mencionar que las plantas poseen un mecanismo inducible de respuesta sistémica a la infección, denominado 'resistencia sistémica adquirida' (un especie de trasunto vegetal del sistema inmune de los animales; Figura 2.2). Según éste, una infección local produce una señal que se transmite a toda la planta y que induce de un modo general las barreras naturales de defensa. El ácido salicílico (famoso componente de la aspirina) es uno de los intermediarios en la transmisión de esta señal, y se pueden usar compuestos que mimetizan su estructura para 'engañar' a la planta y provocar la respuesta de defensa de la planta si las condiciones ambientales (temperatura, humedad) hacen temer una infección. Hay ya en el mercado productos de última generación que responden a este principio.

PLAGAS Y SU CONTROL

Aunque las pérdidas medias de cosecha imputables a las plagas de invertebrados (insectos y ácaros; a los nematodos se les imputan más bien enfermedades, pero también pueden considerarse plagas) son del orden del 20%, en parcelas cultivadas concretas pueden representar la totalidad del producto de un año dado. Las plagas también afectan a los productos almacenados (plagas de granero), especialmente en los trópicos. Aparte de los daños directos que causan, muchas plagas de invertebrados invertebrados actúan como vectores de virus, bacterias y hongos patógenos. En conjunto estos factores adversos son responsables en gran parte de la incertidumbre de la producción agrícola y de los bajos márgenes comerciales con que ésta se desenvuelve.

La gestión de la lucha contra las plagas en las grandes extensiones de monocultivo intensivo plantea problemas específicos tanto desde el punto de vista económico (obtener protección suficiente al menor coste posible) como medioambiental (menor contaminación por tonelada de alimento producida; gestión apropiada para prolongar lo más posible el método de lucha empleado).

Mecanismos de defensa

Como en el caso de los microorganismos patógenos, los tejidos vegetales serían alimentos ideales para cualquier insecto si no fuera porque las plantas han desarrollado durante el proceso evolutivo unos mecanismos

RESISTENCIA SISTÉMICA ADQUIRIDA (SAR)

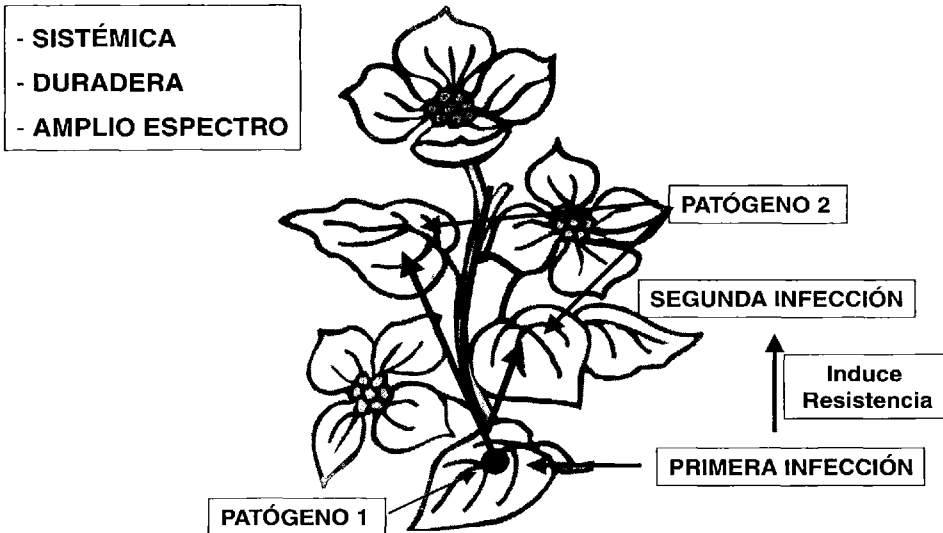


Figura 2.2.—Representación esquemática del mecanismo de la resistencia sistémica adquirida (mediada por el ácido salicílico).

apropiados para su defensa. Sin ir más lejos, las plantas fabrican varias decenas de miles de compuestos que pueden ser tóxicos, repelentes o inhibitorios para los animales de todo tipo, incluido el hombre. Esto dificulta enormemente su consumo y hace que sólo especies concretas hayan resuelto el problema de cómo salvar las barreras defensivas. También como en el caso de los insectos, estas barreras pueden ser permanentes o inducibles, y la resistencia genética permite en algunos casos obtener cultivares resistentes.

El uso de plaguicidas

El uso de plaguicidas ha sido y seguirá siendo un elemento insustituible en la moderna agricultura. Sin embargo, dicho uso ha ido evolucionando a lo largo de más de medio siglo hacia prácticas más compatibles con el medio ambiente. Inicialmente se introdujeron insecticidas organoclorados (como el DDT) que resultaron ser difícilmente biodegradables y eventualmente hubieron de prohibirse (o su uso fue restringido a casos

muy concretos: la OMS autoriza el uso del DDT para combatir los mosquitos vectores de la malaria en ciertos países). Estos insecticidas fueron reemplazados por carbamatos y organofosforados más compatibles con el medio ambiente —hacia los años 60— y, más recientemente por piretroides. Ha ocurrido además una reducción concomitante en la cantidad global utilizada de insecticidas. Así por ejemplo, según datos de la Agencia Norteamericana de Protección Ambiental, se ha pasado de 85.000 toneladas en 1979 a 37.000 toneladas en 1997. Entre los insecticidas más apropiados en la actualidad se encuentran las variantes de la toxina de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, que son altamente específicas y biodegradables, y las hormonas sintéticas que afectan de modo específico al desarrollo de los insectos. La reducción en el consumo de insecticidas ha sido posible por una mejor combinación de la lucha química con prácticas culturales apropiadas, la resistencia genética y la lucha biológica en una estrategia integrada. Ninguno de los modos de lucha garantizan por sí solos una reducción de los daños de las cosechas compatibles con la práctica agrícola.

Plantas transgénicas resistentes a insectos

Hemos mencionado que uno de los insecticidas más compatibles con el medio ambiente —por su alta especificidad y biodegradabilidad— es la toxina Bt de la bacteria *Bacillus thuringiensis*. Ésta se ha venido aplicando durante las últimas décadas de una forma muy simple: en forma de cultivo liofilizado, sin purificación previa de la toxina. La posibilidad de obtener plantas transgénicas que sobre-expresen el gen que codifica dicha toxina (de hecho, basta expresar la parte del gen que codifica el dominio activo) ha sido explotada en la práctica agrícola desde mediados de la anterior década con un éxito considerable. Algodón, maíz y patata fueron las primeras cosechas transgénicas que se desarrollaron con un gen modificado de la proteína Bt: resistencia a los insectos que destruyen la cápsula en el algodón, resistencia al taladro europeo en el maíz, y resistencia al escarabajo de la patata (*Leptinotarsa decemlineata*). Los beneficios potenciales de los cultivares resistentes son los siguientes: 1) Aumento de los rendimientos medios (al evitar pérdidas). 2) Mejora de la calidad de los frutos (al evitar manchas y daños externos). 3) Reducción drástica del uso de insecticidas (costes menores y menor daño ambiental). 4) Menos riesgos laborales para el agricultor. 5) Un método más para incorporar a la lucha integrada contra las plagas.

En el caso de las plantas transgénicas, como en el de cualquier otro método de lucha (insecticidas convencionales; lucha biológica), los insecticidas

tos pueden desarrollar a medio o largo plazo estrategias que les permitan sortear los factores que le son adversos.

Esto tiene dos consecuencias de carácter general: 1) Hay que gestionar la herramienta de lucha para alargar lo más posible su vida útil (ningún método de lucha resulta útil de modo indefinido). 2) Hay que buscar nuevos agentes de control.

En relación con el primer objetivo, se ha desarrollado una metodología que consiste en la creación de refugios de plantas susceptibles a la plaga (por ejemplo, maíz susceptible al taladro), con disposición y geometría precisas. Respecto al segundo aspecto, se han realizado avances notables en la caracterización de proteínas insecticidas de bacterias (por ejemplo, las proteínas VIP de *Bacillus cereus*) y de inhibidores de enzimas digestivos de insectos procedentes del propio reino vegetal (inhibidores de proteasas y amilasas de insectos).

MALEZAS Y SU CONTROL

Las malas hierbas o malezas reducen los rendimientos de las cosechas fundamentalmente por la competencia que establecen con la planta cultivada por los factores limitantes de la producción: nutrientes, agua y luz. En la práctica, el control de las malas hierbas es indispensable para una práctica agrícola productiva y rentable, hasta tal punto que implica uno de los principales elementos en los costes de producción: mano de obra, cuando se hace a mano, energía, cuando se aborda mecánicamente, o productos fitosanitarios, cuando se resuelve mediante herbicidas.

En principio una maleza es una planta no deseada en el campo de cultivo, cualesquiera que sean sus gracias en otros habitats. De los cientos de miles de especies vegetales, sólo unos cientos causan problemas. Las características comunes de estas especies son esencialmente dos: capacidad de competir eficazmente con la planta cultivada y capacidad de persistir un año tras otro en el campo de cultivo.

Las malezas tienen en común con las plantas cultivadas su adaptación a las condiciones del campo de cultivo, lo que significa que, en cierta medida, unas y otras han coevolucionado y han respondido a retos evolutivos comunes. La diferencia esencial es que las plantas cultivadas necesitan del hombre para completar sus ciclos vitales (han sido especialmente seleccionadas para esto) mientras que las malezas han conservado su capacidad para la vida autónoma.

Métodos de control

En primer lugar, desde el punto de vista agronómico, es prioritario prevenir la invasión del suelo laborable por las malas hierbas, ya que una vez que éstas se establecen resulta extraordinariamente difícil erradicarlas. Una vez presentes, no hay más opción práctica que tratar de controlarlas de tal modo que influyan lo menos posible sobre los rendimientos de las cosechas.

Las aproximaciones tradicionales al mencionado control han sido muy variadas:

1) prácticas culturales apropiadas; 2) control manual; 3) control mecánico; 4) control biológico; y 5) control químico. Estas aproximaciones no son mutuamente excluyentes.

Sembrar en condiciones óptimas para la planta cultivada puede conferirle ventajas iniciales a ésta sobre las malezas, y estas ventajas iniciales pueden resultar críticas para un control más cómodo: un tempero óptimo del suelo, una profundidad de siembra apropiada, una separación óptima entre líneas o una rotación de cultivos más juiciosa pueden contribuir grandemente a un control eficaz de las malezas.

Los procedimientos manuales siguen estando vigentes para algunos cultivos incluso en países desarrollados, aunque su elevado coste en mano de obra los hace prohibitivos en ciertos contextos. En contraste con las 200 horas de trabajo por hectárea que puede llegar a suponer la escarda manual, los procedimientos mecánicos permiten labrar más de 10 hectáreas por hora. Sin embargo, estos procedimientos tienen como inconvenientes tanto los considerables gastos de energía como el hacer más vulnerable el suelo a la erosión por el viento o el agua. Entre los métodos mecánicos pueden incluirse también la inundación (arroz), cubiertas plásticas o de material orgánico muerto y la eliminación por fuego antes de la siembra.

Hasta la fecha, los métodos de biocontrol que se han propuesto son demasiado lentos para ser útiles en la producción agrícola, por lo que su uso se ha restringido a pastizales y a otras aplicaciones no agrícolas.

A la vista de las consideraciones anteriores, el control químico de las malezas mediante el uso de herbicidas, aunque no exento de contraindicaciones, presenta indudables ventajas que justifican su protagonismo en la práctica agrícola actual. Los herbicidas son activos frente a múltiples especies de malas hierbas y, según las prácticas recomendadas, no causan daños a la planta cultivada. Además, son susceptibles de aplicar rápidamente en grandes áreas, frenando así bruscamente el progreso de la maleza. Entre sus posibles inconvenientes, que pueden ser notables cuando se usan incorrectamente y mínimos cuando se cumplen las normas,

hay que señalar la posible contaminación de acuíferos, su toxicidad potencial para los humanos y el hombre, su persistencia más allá de lo deseado o el desarrollo de resistencia al herbicida por parte de la maleza. La buena práctica agrícola supone una gestión juiciosa de estos inconvenientes. Constituyen una poderosa herramienta que resuelve problemas importantes y de la que no se debe abusar.

Los herbicidas son moléculas capaces de interferir y perturbar procesos vitales para la planta. Se suelen aplicar típicamente en cantidades de 1-2 kilogramos por hectárea, aunque, como ya señalamos, entre las prioridades está el conseguir productos más activos. Algunos pueden translocarse a las raíces y destruir así malezas perennes. Otros muestran efectos residuales, por lo que continúan el control de las malezas emergentes tiempo después de la aplicación..

Entre los procesos metabólicos afectados por los herbicidas, pueden enumerarse los siguientes: inhibición de la fotosíntesis (triazinas); destrucción dependiente de la luz en membranas del fotosistema I (bipiridilos); inhibición de la división celular (dinitroanilinas y cloracetamidas); inhibición de la síntesis de pigmentos (isoxazol); interferencia con el crecimiento por mimesis de las auxinas (derivados del ácido benzoico); inhibición de síntesis de aminoácidos (sulfonilureas; glifosato).

Plantas transgénicas tolerantes a herbicidas

La aplicación predominante en la primera generación de plantas transgénicas es la tolerancia a herbicidas. Esto ha ocurrido por la doble circunstancia de que el control de malas hierbas genera importantes gastos de energía y mano de obra al agricultor y de que es técnicamente posible operando sobre un solo gen. La obtención de plantas con esta característica puede en principio abordarse por selección o por ingeniería genética. En el primer caso se buscan —dentro del acervo génico de la especie, con o sin mutagénesis previa— variantes génicas que confieran resistencia o tolerancia al herbicida. En el segundo caso se inserta un gen foráneo que codifique una versión del blanco del herbicida que sea insensible a él o que codifique una enzima capaz de mediar la destrucción del herbicida.

Entre los cultivares transgénicos tolerantes a herbicida, los más difundidos son los resistentes al herbicida glifosato. Estos cultivares son resistentes gracias a la inserción de un gen que codifica una variante de la enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato sintasa (blanco del herbicida) que no es inhibida por el glifosato. Dicho gen se obtuvo de una bacteria del género *Agrobacterium*, se modificó para su expresión eficaz en plantas y se insertó en cultivares con buenas propiedades agronómicas de soja

o de maíz. En el caso de la resistencia a glufosinato (fosfinotricina), se ha usado un gen de la bacteria *Streptomyces hygroscopicus* que codifica una enzima (fosfinotrician-N-acetil transferasa) que convierte al herbicida en un compuesto inactivo.

El uso de cultivares transgénicos resistentes a herbicidas supone las siguientes ventajas: 1) Uso de herbicidas más compatibles con el medio ambiente. 2) Permite el cultivo con laboreo mínimo, que reduce la erosión y respeta más la biodiversidad dentro del campo de cultivo. Naturalmente, dichos cultivares no son más que una herramienta eficaz en la gestión de las malezas. Como cualquier otra herramienta utilizada en la producción agrícola, su uso debe estar presidido por el buen juicio y debe evitarse su abuso.

CONCLUSIÓN

La biología molecular y la ingeniería genética están permitiendo desenredar la compleja maraña de las relaciones de las plantas en general —y de las cultivadas, en particular— con su entorno biológico: los microorganismos beneficiosos o adversos, los animales, incluido el humano, y las propias plantas. Esto supone un considerable avance en nuestros conocimientos botánicos y está permitiendo resolver problemas concretos de la producción de alimentos.

3. LAS PLANTAS Y SU ENTORNO FÍSICO

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de las plantas requiere no sólo oxígeno y CO_2 atmosférico sino también nutrientes minerales y agua del suelo. La formación del suelo agrícola es un proceso largo y complejo que implica la generación de partículas minerales a partir de la roca madre y su posterior modificación química, así como la adición y descomposición de residuos orgánicos de procedencia vegetal, animal y microbiana. En la corteza terrestre se han descrito más de 90 elementos químicos distintos cuya combinación da lugar a distintos minerales. Entre los elementos químicos más abundantes están silicio, aluminio, hierro y oxígeno que también aparecerán en los suelos agrícolas. Las partículas de suelo pueden ser acarreadas por el agua y el viento al lugar de formación del suelo desde áreas remotas, pero también estos elementos son agentes causantes de la pérdida de suelos agrícolas en el proceso de erosión. Las raíces de las plantas juegan un papel importante en prevenir la erosión de los suelos agrícolas.

La parte más superficial de éstos (horizonte A) es la capa más rica en materia orgánica y minerales disueltos y es la que sustenta el crecimiento de la planta. Debajo de estos 20-30 cm, aparecen el horizonte B o subsuelo donde se acumulan los minerales que se pierden del horizonte A por lixiviación y de donde las plantas pueden obtener agua y nutrientes adicionales. El horizonte C consiste en la roca madre en proceso de descomposición. Solamente un tercio de la superficie terrestre es apta para el cultivo ó el pastoreo; otro tercio es ocupado por bosques y el tercio restante es demasiado rocoso, ó seco (desiertos) para ser cultivable.

EL SUELO Y SU COMPOSICIÓN

Un suelo consiste en partículas minerales, materia orgánica, aire, agua y organismos vivos. Las partículas de suelo no son de tamaño uniforme y su distribución por tamaños afecta a su capacidad de retener agua y aire. Según el tamaño de partículas predominante, los suelos se clasifican en arcillosos (diámetro medio menor de 0,002 mm), limosos (entre 0,02 y 0,002 mm) o arenosos (2-0,02 mm). Tanto el agua como los nutrientes se adsorben a la superficie de las partículas del suelo y cuanto más finas éstas, mayor capacidad de retención de agua y nutriente. Los suelos arenosos con sus grandes partículas retienen peor el agua y los nutrientes que los arcillosos. Cuando se ara un suelo se forman nuevos poros que aportan más aire a las raíces y facilitan la percolación del agua. En las prácticas de «no-cultivo», los canales formados por las raíces de las plantas y por los gusanos de tierra son fundamentales para el tránsito del agua y el intercambio gaseoso. En general los poros más finos (capilares) están rellenos de agua y los grandes de aire.

Las raíces necesitan energía para crecer y absorber minerales que obtienen al «respirar» azúcares producidos por el proceso fotosintético en las hojas, para lo que requieren oxígeno y liberan CO_2 . A veces se subestima la importancia del aire para las raíces de las plantas y para muchos de los organismos del suelo. Cuando llueve o se riega moderadamente, el agua ocupa sólo los poros capilares y los poros grandes están llenos de aire, se dice que el suelo está a la «capacidad de campo». Cuando se inunda, el aire es desplazado por el agua y se priva del necesario oxígeno a plantas y otros seres vivos pudiendo producirles la muerte. Sin embargo, ciertas plantas dotadas de características anatómicas especiales, están adaptadas a vivir en suelos encharcados como veremos más adelante.

Acidez y alcalinidad

La acidez del suelo influye en sus propiedades físicas, en la disponibilidad de nutrientes por las planta y en la actividad biológica del suelo.

Un suelo neutro ($\text{pH} = 7$) tiene una concentración de protones (H^+) de aproximadamente 1 parte por 10^9 partes de agua; un suelo ácido ($\text{pH} = 5$) tiene 100-1000 veces mayor concentración de H^+ y uno alcalino ($\text{pH} = 9$) 100 veces menos. La mayoría de las plantas cultivadas crecen mejor en suelos neutros o ligeramente ácidos. Sin embargo, alrededor del 25% del suelo arable es ácido, y en los trópicos este porcentaje es aún mayor (~40%) llegando a ser de >60% en ciertas zonas tropicales de América.

La lluvia ácida y el uso prolongado de ciertos fertilizantes nitrogenados, p.e. derivados de la urea y del amoníaco, pueden acidificar los suelos. La solubilidad de los iones de aluminio aumenta cuando el pH del suelo es 5,5 o menor y por esta razón en los suelos ácidos es frecuente que las plantas que crecen en ellos, sufran toxicidad por aluminio. En suelos ácidos, además, el fosfato puede combinarse con aluminio, hierro y manganeso produciendo fosfatos insolubles, no asimilables por las plantas. La lluvia ácida y la toxicidad por aluminio han acabado con grandes extensiones arbóreas en distintas zonas del planeta. El fosfato en suelos alcalinos se combina fácilmente con el calcio formando fosfato tricálcico insoluble. Así el fosfato es más fácilmente asimilable por las plantas a pHs neutros o ligeramente ácidos.

Un suelo ácido puede neutralizarse con enmiendas calizas. Fertilizantes ácidos, como el sulfato amónico, pueden neutralizar suelos alcalinos ya que la captación de NH_4^+ por las raíces conlleva la excreción de H^+ . También se acidifica el suelo añadiendo azufre.

El agricultor utilizará uno u otro de estos tratamientos, teniendo en cuenta la cosecha que quiera sembrar, por ejemplo, las patatas crecen mejor en suelos ligeramente ácidos, la alfalfa en suelos ligeramente alcalinos.

Minerales y oligoelementos

Desde finales del siglo XVII se sabe que las plantas durante su crecimiento extraen minerales del suelo. El análisis de las cenizas de las plantas revela la presencia en ellas de más de 50 elementos químicos distintos. La cuestión de si todos ellos se requieren para la vida de la planta empezó a investigarse en 1860 por el científico alemán Julius Sachs quien creció plantas con sus raíces inmersas en soluciones minerales, sin suelo, iniciando lo que hoy denominamos cultivos hidropónicos. Sus experimentos demostraron la necesidad de *seis* macronutrientes: calcio, potasio, magnesio, nitrógeno, fósforo y azufre. Así, demostró que las plantas no necesitan vitaminas ni ninguna otra sustancia orgánica. Años después se demostró que algunas de las sales de Sachs estaban contaminadas con pequeñas cantidades de otras sustancias químicas que pasadas unas décadas, pasaron a denominarse micronutrientes u oligoelementos. Las plantas requieren pequeñas cantidades de ocho oligoelementos: hierro, boro, cobre, cloro, manganeso, molibdeno, níquel y zinc.

Algunas plantas tienen necesidades adicionales. Otras que crecen en terrenos salinos requieren sodio, el arroz silicio, las leguminosas cobalto (para sus rizobios simbióticos que fijan el nitrógeno atmosférico).

Las plantas pueden extraer también del suelo otros minerales aunque éstos no sean requeridos para completar su ciclo vital. Estos pueden resultar beneficiosos para los animales que se alimentan de estas plantas, como es el caso del sodio y del yodo, pero otros pueden ser extremadamente tóxicos para ellos. Este es el caso del selenio que es acumulado en especies del género *Astragalus* que puede ser letal para el ganado que las ingiera.

Al regar las cosechas con aguas de pozo o de ríos que siempre contienen sales disueltas, existe mayor peligro de salinización que si el agua proviene de la lluvia. La salinización ocurre en zonas de baja pluviometría y alta evapotranspiración, como en regiones áridas y semiáridas ó en zonas costeras donde el agua del mar puede contaminar los pozos de riego. Es rara en regiones tropicales con lluvias abundantes. La concentración de cloruro sódico en su suelo salino es =40 mM ClNa (el agua del mar contiene 500 mM ClNa). Plantas sensibles se ven afectadas por concentraciones de sales entre 15 y 20 mM; aunque los iones mayoritarios en suelos salinos son Cl^- y Na^+ , también son frecuentes sulfatos y carbonatos. Casi una cuarta parte de las tierras cultivadas están salinizadas o corren serio peligro de estarlo en un futuro próximo. Las dos terceras partes de los suelos salinos están localizados en Asia donde vive una población que depende del arroz, una cosecha sensible a la sal, como su alimento básico.

EL AGUA Y SU DISPONIBILIDAD

Los minerales que necesita la planta han de estar disueltos en el agua del suelo para que sean absorbidos por las raíces. El CO_2 de la atmósfera que se fijará en carbohidratos gracias a la fotosíntesis, también ha de estar previamente disuelto. La captación del CO_2 por los estomas implica que habrá escapes de vapor de agua. Todo ello origina un continuo flujo de este elemento (transpiración) a través de la planta. Por la noche, cuando se cierran los estomas, la transpiración se para, aún cuando la planta continuará tomando agua del suelo hasta que se rehidrate totalmente. La transpiración, además de disipar calor, transporta los minerales desde las raíces a las hojas. El agua en un suelo también se pierde por evaporación desde su superficie. Esta pérdida puede disminuirse al sembrar las plantas más próximas unas a otras.

La productividad de un ecosistema está ligada a la disponibilidad de agua, más que a ningún otro factor. Sin embargo, las plantas difieren en más de un factor de dos, en su capacidad de producir sustancia seca por 1.000 litros de agua usada, dependiendo del tipo de fotosíntesis C3 ó C4 que realicen. Así el maíz (C4) usa, en condiciones óptimas, 300 litros de

agua por Kilo de materia seca producida, mientras que la soja (C3) requiere casi el doble de agua (650 l) para el mismo resultado.

Déficit hídrico

Si la velocidad de captación de agua en el suelo es menor que la pérdida de agua por transpiración en las hojas, los estomas se cerrarán parcial o totalmente, lo cual disminuirá estas pérdidas pero como contrapartida disminuirá la fotosíntesis al disminuir la captación de CO_2 .

En un día cálido las plantas pueden marchitarse debido al déficit acuoso ya que aún cuando solamente una pequeña fracción del agua del suelo es fijada realmente por la planta, ésta mantiene su turgor transpirando diariamente una cantidad de agua casi igual a su contenido total de este elemento.

La desecación es un síndrome complejo que puede originarse no sólo por sequía sino también por un exceso de sal o por el frío. Estos tres tipos de agresiones abióticas inducen en las plantas una respuesta compleja que implica distintos aspectos fisiológicos y metabólicos. La duración y severidad del estrés, la velocidad con que se produce, el genotipo de la planta y su edad, y si ha estado previamente «aclimatada» al estrés, son factores importantes.

En los desiertos, la escasa vegetación observable está formada o por plantas xerofíticas con estomas casi cerrados, protegidas las epidermis por cera, con raíces profundas y hojas crasas ó transformadas en espinas, o por plantas efímeras, capaces de completar su ciclo vital en un periodo corto, cuando caen las pocas lluvias, como ocurre con las plantas del desierto «florido» en Atacama (Chile).

Las plantas pueden aclimatarse, alterando su homeostasis. Por ejemplo en países nórdicos los árboles no mueren en el invierno a pesar de las heladas que sufren pero si estas mismas se produjeran en el verano, sin previa aclimatación otoñal se perderían grandes extensiones de bosques.

El déficit hídrico provoca un ajuste osmótico en la planta que implica una cadena de transducción de señales molecular, mediada por las hormonas ácido abscísico, etileno y jasmónico, por la cual se aumenta la síntesis de solutos compatibles. Estos son sustancias orgánicas muy solubles, sin carga ó con carga neta cero como son prolamina, β -alanina-betaína, sorbitol, manitol, pinitol, etc. Estos osmolitos protectores se acumulan en el citoplasma y captan agua de hidratación, mientras que en las vacuolas, se almacenan los iones cargados nocivos (Na^+ , Cl^- , etc.).

El déficit hídrico, también potencia la síntesis de ciertas proteínas como la osmotina que puede llegar a suponer un 12% de la proteína total

y que se acumula en la vacuola también como respuesta a patógenos (estrés biótico).

La sobreexpresión por ingeniería genética de los genes que codifican enzimas clave en la ruta de biosíntesis de los osmoprotectores mencionados ó del gen de la osmotina confieren protección frente a la desecación en plantas. Sin embargo, dado que la deshidratación induce la síntesis de numerosos genes protectores, con ciertos motivos en cis comunes en sus promotores, se ha observado que es más conveniente actuar a nivel de los factores transcripcionales implicados en la regulación de estos genes. Así sobreexpresando aquéllos que interaccionan con los elementos DRE es más eficiente la protección obtenida frente a la desecación.

Inundación

Los terrenos encharcados impiden el acceso de oxígeno a las raíces de las plantas. Ciertas plantas son muy sensibles a la falta de O_2 , p.e., el tomate o el guisante. Otras por el contrario toleran bien este déficit, p.e., el arroz. Ciertas plantas de las ciénagas presentan características fisiológicas y anatómicas especiales: hipodermis de la raíz muy desarrollada, presencia de aerénquimas (estructuras columnares continuas que transportan el oxígeno desde la parte aérea a las raíces), raíces poco profundas dotadas de fototropismo negativo, morfología de las mitocondrias alterada, etc.

Las plantas en terrenos inundados han de realizar la glicolisis anaeróbica con formación de lactato ó fermentan a etanol las reservas carbonadas, como la sacarosa del floema ó el almidón de raíces y tubérculos.

La hipótesis del pH-estado (Davies-Roberts) explica el funcionamiento de las células vegetales bajo el agua. En principio la lactato deshidrogenasa (LDH) cuyo pH óptimo es 4, produce ácido láctico que al acumularse en la célula acaba por inactivar a LDH. Entonces a pH ácido se induce la piruvico decarboxilasa (PPC) que transforma piruvato en acetaldehído que por la alcohol deshidrogenasa (ADH) lo reduce a etanol, sustancia fácilmente difusible al medio.

En los casos de anoxia súbita se produciría la muerte de la raíz por acidosis del citoplasma. Pero si se somete durante varias horas a la planta a una hipoxia progresiva, se inducen proteínas de membrana que bombean el ácido láctico formado. También la formación de aerénquimas es más eficiente con hipoxia gradual previa, ya que las aerénquimas son células especializadas cuya muerte celular programada está mediada por etileno y este proceso requiere un cierto tiempo para ser inducido.

EL AIRE Y EL ESTRÉS OXIDATIVO

Si bien las concentraciones de nitrógeno, oxígeno y CO_2 en el aire se consideran apropiadas para el desarrollo de las plantas sobre la superficie terrestre, ciertos componentes nocivos pueden aparecer en el aire como consecuencia de la pérdida de la capa de ozono en la estratosfera y de la liberación de sustancias nocivas, resultado del consumo de petróleo y derivados y de otras actividades industriales. Ambos factores conducen a la aparición en la troposfera de las «especies reactivas de oxígeno» (ROS) que generan radicales libres, ozono, oxígeno singlete, anión superóxido y agua oxigenada.

La planta tiene un sistema de defensa antioxidante integrado por las Vitaminas C y E, carotenoides y glutatión reducido. También se consideran agentes protectores a los enzimas que degradan algunas de las moléculas descritas: superóxido dismutasa (SOD) y catalasa. Plantas transgénicas sobreexpresando, p.e. SOD son más resistentes al estrés oxidativo.

RESPUESTA A ALTAS TEMPERATURAS

Temperaturas 5°C por encima de la temperatura óptima ó superiores producen daños estructurales en orgánulos, citoesqueleto y membranas celulares principalmente. No sólo las plantas sino también bacterias, levaduras y células animales, responden a las altas temperaturas induciendo la síntesis de mRNAs que codifican las denominadas proteínas de choque térmico (HSPs). Estas actúan como «chaperonas», es decir, contribuyen a que las interacciones intra- e inter-moleculares, sean las adecuadas. En cierto modo dificultan la desnaturalización de proteínas esenciales para la vida de la célula y si la subida de la temperatura no es excesiva, contribuyen a la aclimatación al estrés térmico, induciendo un estado de termotolerancia.

Si el incremento de la temperatura externa se produce en condiciones de disponibilidad de agua por parte de la planta, la evapotranspiración puede «refrigerar» e impedir la subida de temperatura en el interior de las células. Si la disponibilidad de agua no es suficiente o la temperatura sube bruscamente, el resultado es la muerte celular.

MEJORA DE LA RESISTENCIA AL ESTRÉS HÍDRICO

El agua es el primer compuesto químico que limita el desarrollo de las plantas. De ahí que la obtención de plantas resistentes a la sequía haya

sido un objetivo de los mejoradores. Dos factores están implicados en el uso efectivo del agua: 1) la captura del agua; 2) el uso efectivo del agua capturada. Para ello se ha tratado de incorporar en las variedades altamente productivas, los caracteres morfológicos y fisiológicos de la resistencia a la sequía.

Acortar el ciclo vital de la planta para que se complete cuando el agua en el suelo esté disponible, es lo que se ha realizado con ciertas leguminosas (cowpeas) en el Sahel. Antes de 1980 la mayoría de las variedades requerían entre 80-120 días para completar el ciclo en la actualidad los mejoradores han obtenido variedades que lo completan en 65 días y que en condiciones de baja pluviometría rinden cuatro veces más que las variedades tradicionales. Si la pluviometría es adecuada (450 mm) no existe diferencia entre los dos tipos de variedades en cuanto a rendimiento.

En el CIMMYT de México se han obtenido maíces más resistentes a la sequía, seleccionando líneas de la variedad local Tuxpeño que en condiciones de sequía desarrollaban casi simultáneamente las flores masculinas y femeninas, lo que permite repartir más carbohidratos (energía) a la mazorca y producir más grano con menos agua.

Utilizando técnicas moleculares, también se han identificado genes que confieren resistencia al déficit de agua. Por ejemplo, los genes, ya mencionados, que codifican enzimas implicados en la síntesis de osmolitos protectores, o los que codifican factores transcripcionales que regulan rutas metabólicas completas implicadas en la adaptación a la sequía. Incorporando transgénicamente estos genes se podría aumentar la resistencia.

MEJORA PARA EL USO EFICIENTE DE LOS NUTRIENTES

Para captar mejor los minerales del suelo, las características del sistema radicular son críticas. Su arquitectura, la eficiencia en la captación por unidad de longitud, la capacidad de expansión a zonas fértiles, la de modificar la rizosfera y la de crecer simbióticamente con micorrizas. Todo ello está regulado por numerosos genes. También es importante la capacidad de la parte aérea para translocar los nutrientes absorbidos por las raíces y para redistribuir los de las hojas en senescencia.

Las cosechas extraen del suelo grandes cantidades de nitrógeno que habrán de ser restituidos con los abonos de síntesis si se quiere mantener la fertilidad del suelo. También son necesarios abonos fosfatados y potásicos. La concentración de fosfatos y oligoelementos en los suelos agrícolas suelen ser suficientes pero no así su disponibilidad para las plantas.

Tratar de modificar la planta sería más deseable que lo que se viene haciendo, que es añadir en forma disponible estos minerales.

Recientemente, se ha demostrado que plantas transgénicas expresando en sus raíces el gen que codifica el enzima citrato sintasa, eran capaces de solubilizar en suelos alcalinos el fosfato tricálcico insoluble y así lo hacían disponible para las plantas. Este mismo gen permite evitar la toxicidad por aluminio en papayas creciendo en suelos ácidos ya que el cítrico es un buen agente quelante del Al^{3+} que de este modo ya no es absorbido por las raíces.

Un problema importante sigue siendo la presencia de suelos salinos en la tierra. En éstos, al exceso de concentración salina se une la toxicidad del catión Na^+ . Los mejoradores han seleccionado de un modo empírico cosechas más tolerantes a la salinidad ó reemplazado el cultivo de ciertas especies por otras más resistentes, al empeorar las condiciones del suelo. Sin embargo, los biólogos moleculares han identificado genes asociados a esta tolerancia y la sobreexpresión de algunos de estos genes, como el que codifica un transportador de sodio (Na^+) en la membrana de la vacuola, dan como resultado plantas más resistentes ya que destoxifican el citoplasma de estos nocivos cationes y los almacenan en la vacuola. De este modo se han conseguido tomates que pueden crecer en 500 mM ClNa.

CONCLUSIÓN

En conclusión, la mejora clásica y la biotecnología son complementarias y conjuntamente pueden ser utilizadas para paliar los distintos tipos de estrés abiótico en las cosechas, El conocimiento fisiológico y molecular de los procesos implicados es un requerimiento previo para que agrónomos, mejoradores clásicos y biotecnólogos diseñen plantas capaces de crecer en zonas marginales con vistas a alimentar a una población mundial creciente.



4. LAS PLANTAS EN SU ENTORNO SOCIAL

INTRODUCCIÓN

En las aplicaciones de la ingeniería genética a las plantas cultivadas se han realizado mayores progresos que en las relativas a los animales, a pesar de que el problema de la transformación se resolvió antes en los animales que en las plantas. En la actualidad, se cultivan plantas transgénicas en más de 40 millones de hectáreas, distribuidas por una docena de países. Este avance se ha dado en las plantas porque se prestan más fácilmente que los animales a las alteraciones transgénicas, al ser organismos menos integrados funcionalmente y más plásticos desde el punto de vista genético.

La primera generación de variedades vegetales transgénicas responden a los dos retos que viene enfrentando la agricultura en las últimas décadas: producir más por hectárea y hacerlo con un menor impacto ambiental por tonelada de alimento producida. Entre las características alteradas, destacan las que afectan a la reproducción —por ejemplo, las manipulaciones que facilitan la obtención de híbridos— y las que tienen que ver con la protección de los cultivos frente a factores bióticos adversos, tales como plagas y enfermedades.

El mayor rendimiento de los híbridos (vigor híbrido o heterosis) se viene explotando durante las últimas décadas en todas aquellas especies en que, como en el maíz, la obtención de semilla híbrida era comercialmente viable. Ahora, la ingeniería genética ha venido a hacer viable económicamente la obtención de semilla híbrida en otras especies importantes, tales como la colza. La obtención de variedades resistentes a plagas o a enfermedades contribuye al doble objetivo de aumentar el rendimiento, al disminuir las pérdidas, y de permitir una agricultura más limpia, al ahorrar cantidades significativas de productos agroquímicos, que así dejan de incorporarse al medio.

Las alteraciones genéticas que acabamos de describir no afectan en absoluto a las propiedades organolépticas de los alimentos derivados de las variedades en cuestión: si la variedad original da frutos óptimos en lo que se refiere a textura, sabor y aroma, también lo hará la transgénica derivada de ella. No hay gran incentivo para alterar los caracteres propios del alimento y, en esencia, seguiremos comiendo lo mismo que ahora, si así lo deseamos. Sin embargo, sí existen intereses sectoriales para que se alteren características de ciertos alimentos que tienen que ver con su procesamiento industrial y su transporte. A esta segunda categoría de objetivos pertenece la obtención de tomates con menor contenido en agua para que la pasta que se obtenga sea más espesa o la de patatas con mayor contenido en materia seca para facilitar la fritura industrial.

Una tercera generación de variedades transgénicas está representada por aquellas que incorporan características que previamente no eran propias de los vegetales, objetivo que supone una ruptura radical con respecto a los que eran abordables por los métodos de la mejora genética clásica. Entre estos objetivos cabe mencionar ejemplos muy variados: la producción de plásticos biodegradables, aceites de interés industrial, vacunas, hormonas y otros productos de interés farmacéutico, así como plantas útiles en la descontaminación de suelos. Algunas de estas aplicaciones, como la producción de plásticos, requieren grandes extensiones de suelo laborable y, en ciertas circunstancias, podrían competir con la producción de alimentos por bienes escasos, como son el suelo laborable y el agua para el riego.

AGROALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE

La principal aportación de la ingeniería genética en relación con la agroalimentación es incidiendo sobre la mejora genética de las plantas, tanto en relación con su rendimiento como respecto a la calidad de los productos recolectados. Antes del desarrollo de la ingeniería genética, el mejorador forzaba la generación de variabilidad y luego descartaba la mayor parte de las variantes generadas, seleccionando sólo una mínima fracción de ellas. Ahora se trata de aumentar la variabilidad de la planta de interés mediante la adición o alteración de unos pocos genes elegidos *a priori*, por lo que se hace innecesaria, o se reduce en extremo, la selección posterior.

En general se parte una variedad productiva obtenida por los métodos tradicionales para abordar la mejora molecular. Las técnicas de la mejora clásica siguen siendo óptimas para el manejo de caracteres que dependen de muchos genes, como, por ejemplo, el rendimiento poten-

cial, mientras que las de ingeniería genética ofrecen indudables ventajas para la mejora de caracteres que dependen de uno o pocos genes, como ocurre con la resistencia genética a plagas y enfermedades.

Respecto a los objetivos de la mejora, en la nueva etapa se siguen asumiendo los de las etapas anteriores, pero se abre la posibilidad de plantear otros nuevos que no se podían abordar con las técnicas clásicas. Entre los objetivos heredados hay que distinguir los que responden a los retos fundamentales de la agricultura —que debe ser más productiva y más limpia— de los que responden a otras demandas sociales, sean de la industria o de los consumidores.

Entre los objetivos nuevos se incluyen todos aquellos que implican la introducción de genes que proceden de fuera del reino vegetal para obtener aplicaciones o productos distintos de lo tradicionales: nuevos productos industriales no alimentarios —como por ejemplo, plásticos biodegradables— que pueden suponer una significativa demanda potencial de suelo laborable; productos farmacológicos, de alto valor añadido y baja demanda de suelo; plantas útiles para la descontaminación ambiental (fitoremediación) o para otras aplicaciones medioambientales. Se ha progresado en distinto grado para los distintos objetivos propuestos: mientras que en unos casos se ha aprobado el uso comercial de variedades transgénicas, en otros se está en fase de laboratorio, de ensayo de campo o no se ha pasado del terreno de la hipótesis.

Respuesta a los dos retos principales de la agricultura

La nueva tecnología está ya incidiendo sobre los objetivos que tienen que ver con un aumento de la productividad y con la práctica de una agricultura más compatible con el medio ambiente (Tabla 1).

La primera aplicación importante de índole molecular que ha encontrado gran aceptación entre los mejoradores comerciales no ha implicado la obtención de plantas transgénicas. Se trata de la elaboración de mapas de marcadores moleculares de los genomas de las principales especies cultivadas. En uno de estos mapas es posible situar los genes responsables del control genético de cualquier carácter agronómico de interés (resistencia a una enfermedad, talla baja, maduración temprana, etc.), lo que simplifica sobremanera algunas de las manipulaciones de la mejora clásica, tanto de los caracteres mono u oligogénicos como de los poligénicos.

TABLA 1. *Objetivos relacionados con el rendimiento y con una menor contaminación*

<i>Tipo de objetivo</i>	<i>Ejemplos</i>
Alteración de la reproducción	Androsterilidad y restauración de ésta (para obtención de híbridos) Adelanto de la floración en plantas leñosas Frutos partenocárpicos (sin semillas)
Resistencia a plagas y enfermedades	Resistencia a insectos (proteína Bt)
Resistencia a herbicidas	Resistencia a glifosato (round up) Resistencia a fosfinotrician (basta)
Resistencia a factores del suelo	Resistencia a la salinidad Resistencia a la acidez del suelo
Resistencia a factores climáticos	Resistencia al choque térmico Resistencia a la helada Resistencia al estrés oxidativo

Otra aportación de gran trascendencia consiste en la obtención de híbridos por ingeniería genética de especies en las que no era factible. Esto permite extender o facilitar la explotación de la heterosis o vigor híbrido a numerosas especies, tales como la colza o la endivia.

En general, tienen alta prioridad todas las modificaciones que afectan a los mecanismos de reproducción de las plantas. Así por ejemplo, la obtención de frutos sin semillas (partenocárpicos), o el adelanto en años del momento de floración en especies leñosas, mediante ingeniería genética, son ya realidades aunque no hayan alcanzado todavía el mercado. El conocimiento básico sobre los modos de respuesta de las plantas a los retos de la sequía, de los factores adversos del suelo (la salinidad o la acidez) y de los del clima (fríos o calores extremos) ha experimentado avances muy notables. Sin embargo, la complejidad de los mecanismos involucrados ha dificultado hasta ahora la traducción de estos avances en aplicaciones prácticas.

Las innovaciones de la ingeniería genética relacionadas con la obtención de plantas transgénicas resistentes a herbicidas, microorganismos patógenos y plagas de insectos inciden sobre el rendimiento, al evitar pérdidas importantes, sobre los costes de producción, al ahorrar mano de obra y productos químicos, y sobre el impacto ambiental, al disminuir el uso de estos últimos y paliar la erosión. En efecto, el uso de productos fitosanitarios (herbicidas, plaguicidas, fungicidas,, etc.) representa no sólo un capítulo de gastos importante en la producción agrícola sino que plantea serios problemas de contaminación del medio ambiente.

Los estudios moleculares han permitido caracterizar los genes de defensa que los mejoradores venían manipulando empíricamente y diseñar nuevas estrategias de lucha que implican una reducción considerable en el uso de los mencionados productos. Hay que citar también las plantas resistentes a distintos tipos de virus, ya que para estos se conocían hasta ahora pocas fuentes de resistencia genética y se carecía de métodos curativos

La primera generación de plantas transgénicas resistentes a insectos es ya comercial. La resistencia se basa en la expresión de distintas variantes de una proteína bacteriana, la proteína *Bt*, que tiene propiedades insecticidas y que procede de la bacteria *Bacillus thuringiensis*. Se conocen variantes de esta proteína *Bt* capaces de dañar de manera específica a distintos tipos insectos. Esta propiedad, su especificidad, ha hecho que la bacteria liofilizada (desecada) se haya usado como insecticida desde casi medio siglo, ya que permite combatir una plaga determinada sin dañar a otros insectos o a otros animales. Además, por ser fácilmente biodegradable, no perjudica al medio ambiente. La posibilidad de expresar el gen que codifica la proteína *Bt* en la planta facilita una aplicación agrícola más limpia y eficaz.

Otros objetivos tradicionales

La mejora genética tradicional ha venido persiguiendo objetivos que aunque no corresponden a los retos fundamentales de la agricultura, representan demandas sociales diversas que están plenamente justificadas, tales como la mejora de los distintos tipos de calidad (Tabla 2).

La mejora de la calidad nutritiva de los productos agrícolas y de sus propiedades tecnológicas relacionadas con la recolección mecánica, la distribución y el procesamiento industrial ha sido desde antiguo uno de los objetivos de la mejora genética. La ingeniería genética ofrece múltiples oportunidades de incidir sobre estos aspectos. El retraso de la maduración de los frutos o de la senescencia de las flores, la alteración de la composición nutritiva de los alimentos o la alteración de sus propiedades organolépticas son otras de las modificaciones posibles.

Nuevos objetivos

Las plantas pueden alterarse por ingeniería genética con fines distintos de los tradicionales. En este sentido cabe señalar su posible uso como biorreactores y como agentes para la descontaminación (Tabla 3).

TABLA 2. *Objetivos tradicionales que también aborda la ingeniería genética.*

<i>Tipo de objetivo</i>	<i>Ejemplos</i>
Alteraciones morfológicas y ornamentales	Talla de la planta (enanismo*) Color y forma floral Arquitectura vegetal
Calidad nutritiva	Aminoácidos esenciales Enriquecimiento en vitamina A Enriquecimiento en hierro Eliminación de alérgenos Eliminación de toxinas
Calidad organoléptica	Prevención de la decoloración Proteínas edulcorantes Modificación de aromas
Calidad tecnológica	Maduración controlada Consistencia del fruto en el transporte Alteración de la lignina

* La talla también afecta al rendimiento.

Gran parte de la actividad agrícola está encaminada a la recolección de órganos y tejidos de reserva (granos de cereales o leguminosas, tubérculos de patata, raíces de remolacha, etc.) o, si se quiere, de las proteínas, hidratos de carbono y lípidos (grasas) contenidos en ellos. Las plantas producen diversos tipos de biopolímeros, entre los que cabe destacar por su abundancia la celulosa, que es biodegradable pero no digerible por el hombre, y el almidón, que es la principal fuente de las calorías de nuestra dieta. Ahora se puede hacer que las plantas produzcan biopolímeros no vegetales de interés industrial.

Las materias primas para fabricar estos productos finales son sintetizadas en el tejido foliar y transportadas al tejido de reserva. La nueva tecnología permite cambiar el producto acumulado en dicho tejido: basta con bloquear la ruta de síntesis del producto habitual, e introducir los genes que codifican las enzimas necesarias para la síntesis de un producto alternativo.

Por ejemplo, una especie bacteriana (*Alcaligenes eutrophus*) fabrica un tipo de polímero de reserva (polihidroxi-butirato y otros polihidroxiácidos; PHAs) cuyo interés radica en que sirve como materia prima para la fabricación de envases y utensilios de un plástico biodegradable. Se ha visto que la expresión transgénica en plantas de los genes bacterianos que determinan la síntesis de PHAs confiere a éstas la capacidad de acumular dicho plástico. Además, se ha podido restringir la acumulación a los

compartimentos donde se almacena el almidón en los tejidos de reserva, donde no tiene efectos deletéreos para la planta y donde la recolección es fácil. También, en la planta de algodón, se ha logrado incorporar los PHAs a las propias fibras celulósicas, dando lugar a una fibra textil con nuevas propiedades.

Lo mismo que se han empleado bacterias, levaduras o animales para producir por ingeniería genética numerosos productos de interés farmacológico —tales como hormona del crecimiento, insulina, antígenos para vacunas, anticuerpos, hormonas peptídicas, etc.— pueden utilizarse las plantas con el mismo fin. El que sean más apropiadas que los otros tipos de organismos depende en cada caso de los costes de producción y purificación. De cualquier manera, estas aplicaciones de las plantas carecen de relevancia agronómica porque requieren muy poca extensión de suelo laborable.

En los últimos años se ha puesto de manifiesto que ciertas plantas pueden ser utilizadas para regenerar suelos contaminados, aplicación a la que se suele denominar «fitorremediación». El uso de plantas transgénicas para este fin es todavía incipiente, pero ya se tienen algunos resultados esperanzadores. Dentro de este tipo de aplicación, pueden citarse unas plantas transgénicas de *Arabidopsis* que contienen el gen de una enzima que transforma el ión mercúrico en metil-mercurio (más volátil) y que parecen ser eficaces en la recuperación de suelos contaminados por mercurio. También se han obtenido plantas que expresan genes que codifican enzimas que son capaces de degradar compuestos orgánicos, tales como nitroglicerina o cloroformo).

TABLA 3. *Nuevos objetivos de la ingeniería genética vegetal.*

<i>Tipo de objetivo</i>	<i>Ejemplos</i>
Las plantas como bioreactores	
1) Productos de alto consumo	Producción de plásticos biodegradables Producción de aceites industriales
2) Productos de alto valor añadido	Producción de hormonas y fármacos Producción de vacunas y anticuerpos
Fitorremediación	Plantas para recuperar suelos contaminados con arsénico, mercurio y otros metales pesados y otros productos

El concepto de contaminación incide en la ciencia agronómica en al menos tres contextos: a) el de la contaminación producida por la propia práctica agrícola; b) el de las limitaciones que la contaminación de suelos y aguas impone a los cultivos; c) el de la posibilidad de cultivar plantas apropiadas como agentes descontaminantes. Esto último es lo que se ha dado en llamar «fitorremediación». La ingeniería genética vegetal constituye una herramienta de gran versatilidad y potencial en la resolución de problemas concretos que se enmarcan en los tres ámbitos esbozados.

Es importante señalar que toda mejora del rendimiento disminuye potencialmente la contaminación, ya que la forma correcta de contabilizar ésta es por tonelada de alimento producido, por lo que una reducción del suelo necesario para producir una tonelada disminuye el impacto ambiental de la actividad agrícola, al disminuir la contaminación y paliar la erosión. En efecto, el uso de productos fitosanitarios (herbicidas, plaguicidas, fungicidas,, etc.) representa no sólo un capítulo de gastos importante en la producción agrícola sino que puede plantear serios problemas de contaminación del medio ambiente.

El término fitorremediación alude a un nuevo campo científico y tecnológico que se ocupa de la descontaminación del suelo, el agua o el aire mediante el uso de especies vegetales apropiadas, hayan sufrido o no alteraciones en sus genomas por ingeniería genética, aunque esto último es generalmente necesario para que el proceso sea eficaz. En efecto, la ingeniería genética acabará siendo una herramienta esencial para lograr que las plantas sean capaces de extraer, secuestrar y/o destoxificar una amplia gama de contaminantes elementales y de tóxicos orgánicos. Entre las alteraciones requeridas, ocupan un lugar prominente las que confieren a la planta la capacidad de crecer en terrenos contaminados, por lo que el objetivo de cultivar terrenos marginales forma parte indisoluble del más general de la remediación. Si el elemento acumulado por la planta es de alto precio —como, por ejemplo, el oro— se ha llegado a concebir el proceso que se conoce como «Fito-minería».

Los contaminantes pueden remediarse a través de una serie de procesos biofísicos y bioquímicos, tales como adsorción, transporte a través de las membranas celulares, translocación desde el sistema radicular a las partes aéreas, hiperacumulación en vacuolas y otros depósitos, o destoxificación y mineralización. La ingeniería genética permite sobre-expresar genes existentes en ellas o expresar transgénicamente genes de bacterias o animales que realcen la capacidad natural de algunas plantas para realizar estos procesos.

Entre las ventajas de la fito-remediación frente a otras alternativas se incluyen su gran eficacia potencial y la posibilidad de unos costes muy por debajo de los de dichas alternativas. El sistema radicular representa

muchos kilómetros de raíces por cada hectárea, lo que implica una enorme interfaz de extracción hasta una determinada profundidad del perfil del suelo. Esto puede permitir una extracción muy completa. Las posibles limitaciones estriban precisamente en que no se puede remediar más allá de la profundidad de las raíces, en que el proceso es lento y en que la contaminación no debe ser tan alta que impida el crecimiento vegetal. Otro posible inconveniente que debe ser tenido en cuenta es el de que la remediación no facilite que otros organismos que utilicen la parte aérea como alimento resulten contaminados.

Remediación de contaminantes elementales

Los contaminantes elementales admiten en general pocas modificaciones biológicas o químicas durante el proceso de remediación. Entre estos contaminantes se incluyen metales pesados y elementos radiactivos, tales como arsénico, cadmio, cesio, cromo, plomo, mercurio, tritio o uranio. En general, la remediación de estos elementos supone la extracción del catión u oxianión correspondiente y su translocación a los órganos aéreos de la planta, para poder ser cosechado. El contaminante puede o no ser convertido a un derivado menos tóxico o ser acumulado en vacuolas o en otros sitios subcelulares. Como mínimo, debe conseguirse la inmovilización del contaminante en las raíces con el fin de prevenir al menos su transferencia a sitios distintos del de contaminación. En las Figuras 4.1 y 4.2 se muestran diversos ejemplos de posibles ligandos y mecanismos que facilitan el transporte y el secuestro por la planta de contaminantes elementales.

Remediación de contaminantes orgánicos

El objetivo de la remediación en el caso de los contaminantes orgánicos es el de hacer que las plantas los degraden y mineralicen, transformándolos en componentes menos tóxicos o inocuos, tales como CO₂, nitrato, cloro y amonio. Entre los contaminantes orgánicos para los que existe un considerable interés en remediar, cabe citar como ejemplos los siguientes, que pueden ser no sólo tóxicos y teratogénicos, sino también carcinogénicos: bifenilos policlorados, incluida la dioxina, compuestos aromáticos policíclicos, incluido el benzopireno, compuestos nitroaromáticos, incluido el trinitrotolueno, e hidrocarburos halogenados como el tricloroetileno. En las Figuras 1 y 2 se muestran algunos mecanismos y transformaciones *in planta* de contaminantes orgánicos.

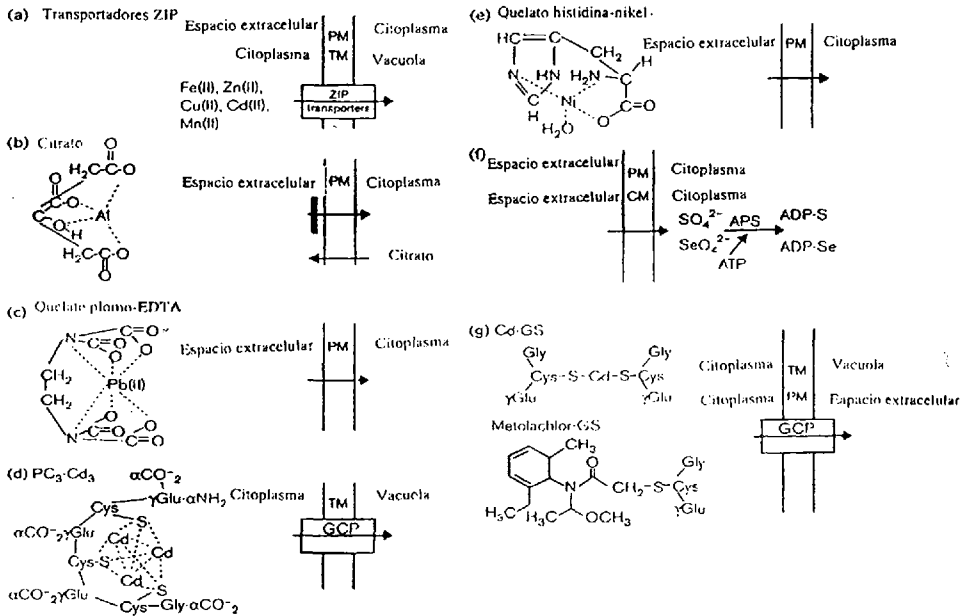


Figura 4.1.—Posibles complejos y mecanismos involucrados en el transporte y secuestro de contaminantes (Meagher, 2000). a) Transportadores ZIP a través de la membrana plasmática (PM) entre el espacio extracelular y el citoplasma, así como a través de la membrana del tonoplasto (TM) entre el citoplasma y la vacuola. b) Secreción de citrato que impide la absorción y las consecuencias tóxicas para las raíces de Al(III) y Ni(II). c) EDTA como aditivo facilita la absorción, transporte y translocación de Pb(II) y Fe(II). d) Fitoquelatinas que forman complejos con Cd(II), Cu(II) y Zn(II). e) Histidina facilita absorción, transporte, translocación, acumulación y tolerancia a Ni(II). f) Transporte de seleniato y sulfato se facilita por la formación de adenosina fosfosulfato catalizada por la enzima ATP sulfurasa. g) Metales tóxicos y moléculas orgánicas que pueden formar complejos con glutatión se transportan por el transportador de glutatión conjugado.

Entre el concepto y la aplicación

Como puede verse, se ha desarrollado una robusta estructura teórica relativa a la remediación de contaminantes mediante plantas apropiadas. Por otra parte, se han experimentado con la introducción por ingeniería genética de numerosos procesos y mecanismos útiles en remediación, hasta el punto de que no cabe duda de que esta tecnología rendirá frutos prácticos en un futuro no muy lejano. Sin embargo, hasta el momento no se ha pasado de tímidos ensayos piloto de las aplicaciones más prometedoras. Puede decirse que todavía estamos en esta materia en ese ámbito ambiguo que se define entre la realidad y el deseo.

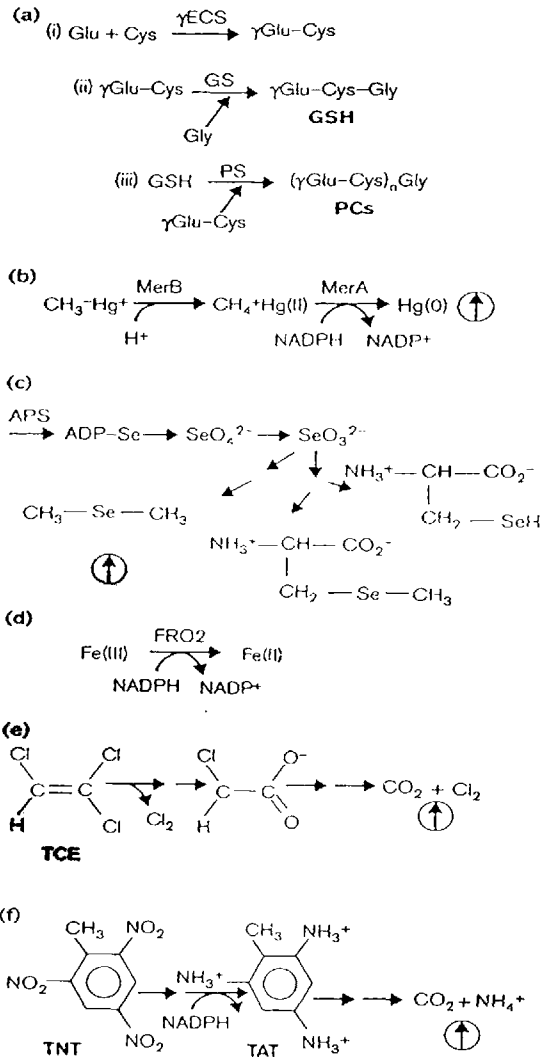


Figura 4.2.—Transformación de tóxicos elementales y orgánicos (Meagher, 2000).
 a) Síntesis de fitoquelatinas. b) Transformaciones del metil-mercurio mediadas por las enzimas codificadas por los genes Mer B y Mer A. c) Reacciones catalizadas por ATP sulfurasa. d) Reducción de hierro férrico a ferroso mediada por la reductasa de quelato férrico. e) Compuestos clorados como el tricloroetileno (TCE) pueden ser mineralizados por enzimas endógenas que son abundantes en ciertas especies de plantas. f) Nitroaromáticos como el trinitrotolueno (TNT) pueden ser transformados en triaminotolueno (TAT) y eventualmente en CO₂ y amonio con enzimas bacterianas expresadas transgénicamente. La flecha hacia arriba = indica volatilización.

BIOSEGURIDAD

Hablar de los riesgos de las plantas transgénicas y de los alimentos derivados de ellas —como de los de cualquier otra tecnología, sea la eléctrica o la del acero— no cabe hacerlo más que aplicación por aplicación. De hecho, la aprobación del cultivo y consumo de plantas transgénicas se hace caso por caso, según un riguroso proceso en el que se tienen en cuenta todos los riesgos imaginados, por desdeñables que parezcan. Nunca en la historia de la innovación se han tomado precauciones tan extremas. En todo caso, el cultivo aprobado es sometido a seguimiento y la autorización puede ser revocada en cualquier momento en que surja una alarma fundada.

No existe el riesgo nulo. Toda actividad humana conlleva un cierto riesgo que ha de ser siempre evaluado en función de los beneficios que dicha actividad reporta: la vacuna de la viruela causó problemas serios a algunos individuos, pero salvó millones de vidas. Las aplicaciones de los nuevos avances biológicos pueden comportar algunos riesgos, pero éstos son evitables mediante la restricción o la prohibición de aquellas aplicaciones que sean peligrosas.

Además, la manipulación genética de las plantas cultivadas ha tenido como uno de sus objetivos, desde el neolítico hasta la actualidad, la eliminación de algunos riesgos de los productos naturales, tales como la presencia de sustancias tóxicas: la cereza silvestre posee sustancias nocivas que fueron eliminadas por selección gracias a que el mal sabor asociado a ellas o su toxicidad manifiesta permitían detectar su presencia sin recurrir al análisis bioquímico. Por otra parte, en algunos casos se ha seleccionado a favor de la presencia de sustancias nocivas: en ciertas variedades de pimiento —algunas muy apreciadas— se encuentran concentraciones altas de capsaicina, una sustancia citotóxica que destruye las membranas celulares empezando por las de las propias papilas gustativas.

Entre los posibles riesgos que puedan derivarse de la producción y consumo de productos vegetales transgénicos hay que distinguir los que incidirían de un modo directo en el hombre y los que afectarían de distintas formas al medio ambiente.

Seguridad para los humanos

Es evidente que las proteínas codificadas por los genes ajenos que se introducen en una planta transgénica —o las sustancias cuya síntesis pueda depender de dichas proteínas— deben carecer de toxicidad para el hombre. Si expresamos en el tomate el gen de la toxina botulínica,

incurrimos en un riesgo cierto y de graves consecuencias. De aquí que la aprobación de productos transgénicos deba hacerse caso por caso y que la carencia de toxicidad se deba averiguar en los antecedentes bibliográficos e investigar según ensayos bien establecidos.

Otro aspecto a considerar es la posible alergenicidad de las plantas transgénicas. El polen del ciprés o del chopo, la harina de trigo o de soja, las almendras y otros frutos secos, las frutas, los mariscos y tantos otros alimentos habituales con los que estamos en contacto pueden causar reacciones alérgicas en individuos susceptibles. La introducción de genes ajenos implica añadir nuevos componentes que se irán a sumar a las decenas de miles que ya componen cualquier alimento. Algunos de estos componentes ajenos pueden poseer propiedades alergénicas notables y en ese caso debe evitarse su incorporación por expresión transgénica.

No sólo se excluye transferir genes que codifiquen alérgenos conocidos sino que también se evita, en principio, transferir genes procedentes de organismos de los que se derivan alimentos que producen alergia, a no ser que se demuestre que el gen en cuestión codifica una proteína que no es responsable de la alergia observada.

Finalmente, carece de fundamento en términos reales el miedo a que los genes incorporados al alimento transgénico puedan incorporarse a nuestro propio organismo. Después de todo, llevamos consumiendo durante cientos de milenios células animales que poseen los genes necesarios para fabricar cuernos y no se ha observado ningún ser humano con tal característica.

Flujos génicos

Una preocupación muy generalizada es la de que los genes añadidos a un organismo transgénico se transfieran a otros organismos. Los genes (uno o pocos) foráneos añadidos se incorporan al genoma de la planta que, como ya se ha dicho, contiene entre 20.000 y 30.000 genes. Una vez incorporados, estos genes corren la misma suerte que los preexistentes en el genoma. El flujo génico de unos genomas a otros es muy limitado, pero ocurre en ciertas circunstancias. Veamos en cuáles es improbable y en cuáles no puede descartarse.

No debemos temer la transferencia de genes desde el genoma vegetal —transgénico o no— a los microorganismos del tracto digestivo. No se ha observado dicha transferencia en experimentos especialmente diseñados para tal propósito y, por otra parte, tampoco es ésta de esperar desde el punto de vista teórico. Los genes de resistencia a antibióticos, que se emplean como auxiliares en la ingeniería genética, han sido especialmen-

te señalados en este contexto, ya que de transferirse, interferirían con el uso clínico del antibiótico correspondiente. A pesar de no existir un riesgo objetivo y de que los antibióticos afectados ya no se usan en clínica, se ha acordado no utilizar en el futuro dichos genes y sustituirlos por otros como auxiliares.

Una segunda vía de posible flujo génico a considerar es la transmisión por polen a plantas cultivadas de la misma o de distinta especie y a plantas de especies silvestres. Para que dicha vía opere es preciso que se den las siguientes circunstancias: que el polen sea transportado, que la planta receptora esté en el momento apropiado para ser polinizada, que el polen sea compatible, que la planta resultante sea fértil y que su descendencia sea viable.

En el caso de plantas no transgénicas de la misma especie, el riesgo es desdeñable si son autóгамas (autofértiles), y medible, si no lo son. Si la semilla es híbrida, como en el maíz, no hay riesgo de transmisión a la descendencia, por lo que basta con rodear la parcela de maíz transgénico con varias filas de maíz no transgénico, para que las parcelas próximas no reciban polen transgénico por encima de los límites legales. De todas formas, existen soluciones tecnológicas que, por así decirlo, pueden hacer inviable el polen en plantas distintas de la transgénica.

No hay posibilidad de que el polen transgénico fertilice plantas cultivadas de otras especies y, aunque de forma restringida, sí la hay de que lo haga a especies silvestres taxonómicamente próximas. Como ya hemos dicho, una vez incorporado a un genoma, el gen foráneo corre la misma suerte que el resto de los miles de genes de dicho genoma. La transferencia a otras especies ocurre con muy baja frecuencia y hay que distinguir entre distintas situaciones.

No hay problema si no hay una especie silvestre afín en el hábitat donde se lleva a cabo el cultivo o si la especie cultivada es autógamma. Si la planta es alógama, se pueden dar circunstancias de distinta probabilidad según la mayor o menor facilidad con que se produzca la fertilización cruzada. Así por ejemplo, la colza representa una situación de probabilidad más baja que la alfalfa. En Canadá se han sembrado varios millones de hectáreas de colza transgénica y se lleva a cabo un seguimiento exhaustivo. Hasta ahora no hay motivo para la alarma.

La posibilidad de que se generen «supermalezas» al hacer las plantas cultivadas resistentes a ciertos herbicidas carece de fundamento, aunque la maleza que recibiera el gen de resistencia no sería controlable por el herbicida concreto en la parcela de cultivo, pero no le supondría ventaja alguna fuera de ella. Por otra parte, es muy improbable que la adición de uno o pocos genes a una planta cultivada la asilvestren. Como se ha discutido ya, el proceso de domesticación es complejo y supone cambios

radicales en el genoma, por lo que en esencia no es reversible por la introducción de características agronómicas adicionales.

Se han expresado dudas sobre la estabilidad y localización de los genes foráneos que se incorporan a una planta transgénica. Esto no son más que problemas técnicos de fácil solución que en ningún caso suponen un riesgo. Si debe someterse a un escrutinio cuidadoso la incorporación de genes que codifican proteínas de virus, ya que, aunque confieren resistencia al virus, pudieran en algunos casos dar lugar a cepas virales recombinantes.

Seguridad para el medio ambiente

Aparte de los flujos génicos que acabamos de considerar, el riesgo que las plantas transgénicas podrían suponer para el medio ambiente tiene dos vertientes principales: la inducción de resistencia a los productos transgénicos por parte de los patógenos y de las plagas que se quieren controlar con dichos productos y los posibles daños de la planta transgénica a otros organismos que entren en contacto con ella.

La posible inducción en un organismo de resistencia al principio activo que se usa para combatirlo es un problema común a los antibióticos, a los productos fitosanitarios convencionales y, por supuesto, a las plantas transgénicas. El uso de estrategias de aplicación que retrasen al máximo la aparición de dicha resistencia es de interés tanto para la empresa de semillas como para el agricultor.

En cualquier caso, la posibilidad de aparición de resistencia no justifica dejar de usar un sistema de protección mientras funcione, del mismo modo que el que un antibiótico vaya a dejar de ser eficaz no implica que no lo usemos mientras pueda salvar millones de vidas. Debemos usarlo con buen juicio para alargar su vida útil. En el caso de las plantas transgénicas, se sigue una estrategia de refugios no transgénicos que dificultan la aparición de resistencia y, por otra parte, es importante recordar que pueden ser un elemento más en la lucha integrada.

Los posibles daños que las plantas transgénicas resistentes a un determinado organismo puedan causar a otros organismos que entren en contacto con ellas han sido objeto de debate. En particular, ha dado mucho que hablar el caso concreto del maíz transgénico resistente al taladro europeo y los daños potenciales a la mariposa monarca. Si se fuerza a dicha mariposa a consumir dosis altas de polen de maíz transgénico su viabilidad es menor que si consume polen no transgénico. Sin embargo, la mariposa no consume maíz ni polen en condiciones de campo, ya que vive de una planta euforbiácea, y los daños cuando está próxima a los

campos de maíz son mínimos. En contraste, el tratamiento con productos químicos desde una avioneta le afecta significativamente y, si se renuncia a tomar medidas protectoras, los taladros pueden destruir por completo la cosecha de maíz.

El concepto de «equivalencia sustancial»

El punto de partida para la evaluación de los posibles riesgos de una planta transgénica consiste en establecer por vía experimental si ésta es equivalente sustancialmente a la no transgénica de la cual se derivó, si es equivalente excepto para unas características concretas o si no es equivalente. En el primer caso hay que concluir que la transgénica no comporta riesgos adicionales con respecto a la no transgénica. En el segundo caso hay que evaluar los posibles riesgos derivados de la característica o las características diferenciales. En el caso de no equivalencia, el riesgo de la planta transgénica debe ser evaluado *ex novo*, sin apoyarse en la no transgénica como referencia.

Cuando se obtiene una planta transgénica, se pretende introducir en ella unos caracteres de interés o suprimir propiedades no deseables. Es natural que estos efectos pretendidos sean los primeros a investigar en el marco conceptual que acabamos de enunciar. Sin embargo, hay que tener en cuenta posibles efectos no pretendidos. Estos últimos pueden ser predecibles, ya que conocemos en que consiste la modificación esperada, o no ser predecibles debido a alguna interacción inesperada según nuestro conocimiento actual. Las modernas técnicas bioquímicas, tales como la cromatografía de alta resolución o la espectrografía de masas, permiten abordar la identificación de estos últimos.

En cualquier caso, hay que señalar que la aplicación de estos conceptos no tendría por qué estar restringida a las plantas transgénicas, ya que reflejan una problemática que sería aplicable a todas las modificaciones genéticas que se han introducido en los genomas vegetales en los últimos diez milenios.

Aspectos prácticos

Los distintos países y regiones han establecido normativas y procedimientos de aprobación que, aunque similares, reflejan diferentes marcos legales y tradiciones culturales: más pragmáticas las culturas anglosajonas que las mediterráneas y latinas. Así por ejemplo, en Estados Unidos se aplica la legislación vigente para nuevas variedades y nuevos productos

fitosanitarios, junto con la referente a medio ambiente. Esto implica que tienen competencia la *Food and Drug Administration* (FDA), el *United States Department of Agriculture* (USDA) y la *Environmental Protection Agency* (EPA). Esta tendencia se da en los diferentes países, incluidas, como veremos más adelante, la Unión Europea y España.

Los dos primeros productos transgénicos comercializados que han llegado a Europa, un maíz resistente a un insecto y una soja resistente a un herbicida, han suscitado una encendida controversia. A título de ejemplo, describiremos los aspectos considerados en la aprobación del maíz transgénico.

El maíz comercializado es un híbrido de Ciba Seeds (Novartis) que expresa el gen de la proteína *Bt* de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, gen que le confiere resistencia al «taladro europeo» (*Ostrinia nubilalis*), un insecto devastador que, como su nombre vulgar indica, taladra y destruye los tallos del maíz. Su desarrollo en el interior de la planta hace muy difícil su eliminación por tratamiento fitosanitario. Las pérdidas que causa son cuantiosas y los gastos y la contaminación derivados de su tratamiento químico son considerables.

La evaluación que se ha hecho de este maíz en relación con su seguridad para el hombre y con su comportamiento agronómico ha cubierto los siguientes aspectos:

- Análisis molecular y genético del maíz transgénico, que incluye una descripción detallada de las construcciones génicas introducidas a la determinación del lugar de inserción del nuevo gen en el genoma y la comprobación de la estructura molecular exacta de la proteína bacteriana, tal como se expresa en la planta.
- Estudio cualitativo y cuantitativo de la distribución de la proteína foránea en las distintas partes del maíz transgénico.
- Comprobación de que los productos de los genes usados con carácter auxiliar en la obtención de la planta transgénica no se encuentran en cantidades detectables.
- Determinación de que los productos de los genes introducidos, con independencia de que se expresen o no, no son tóxicos para humanos y son degradables de forma rápida en su sistema digestivo.
- Demostración de que la composición de nutrientes del maíz transgénico no difiere de la del híbrido no transgénico del que se partió.
- Comprobación de que el comportamiento agronómico del maíz transgénico no difiere del no transgénico excepto en su resistencia al taladro.

La evaluación de los posibles riesgos para el medio ambiente ha comprendido las siguientes pruebas:

- Estudios de toxicología ambiental, los cuales han incluido la determinación de la toxicidad por vía oral en aves de la proteína bacteriana *Bt*, el ensayo de la toxicidad del polen transgénico para dáfidos, y de distintos tejidos del maíz transgénico para invertebrados del suelo, tales como las lombrices, y la comprobación de que la proteína *Bt* expresada es inocua para insectos que no sean plagas del maíz.
- Una justificación especial de que la planta transgénica de maíz es inocua para especies de insectos amenazadas de extinción.
- Comprobación de que no hay riesgos de la supervivencia del maíz transgénico por sí mismo o de la transferencia de sus genes a especies silvestres próximas o distantes.

La soja *Roundup Ready* de Monsanto, que posee un gen que le confiere resistencia a dicho herbicida, permite su cultivo con laboreo mínimo y un control de malas hierbas más fácil, barato y eficaz. La evaluación de esta soja ha seguido un proceso similar al descrito para el maíz y ha supuesto la realización de centenares de estudios.

En síntesis, a las plantas transgénicas se les están aplicando criterios de precaución que no cumplirían muchas plantas no transgénicas, ni los productos de la mal llamada agricultura biológica, ni muchos productos alimentarios habituales —como el azúcar, el té, el café, la pimienta, el perejil, o las setas llamadas comestibles— y, por supuesto, tampoco numerosos elementos de nuestra vida cotidiana, como el tabaco, el automóvil o el avión.

BIBLIOGRAFÍA

1. *Plantas transgénicas*. P. Carbonero, 1997. Rev. Real Acad. Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (España) 91:115-120.
2. *La ingeniería del pan*. P. Carbonero, 2003. Real Academia de Ingeniería (España) (en prensa).
3. *Plant, Genes and Crop Biotechnology (2nd ed.)* M.J. Chrispeels and D.E. Sadava, 2003. ASPB-Jones & Bartlett Publishers.
4. *La Tercera Revolución Verde*. F. García Olmedo, 1998. Editorial Debate, Madrid, Es. (trad. italiana, Il Sole/24Hore, 2000).
5. *Mejora Genética Vegetal*. F. García Olmedo, en «La ciencia al alcance de la mano, Ciencia para todos P. García-Barreno (ed.). Sociedad Estatal España-Nuevo Milenio 2000.
6. *La biotechnologie per l'agricoltura in Spagna*. F. García Olmedo en «VII Rapporto Nomisma sull'agricoltura italiana. Il Sole/24 Hore, 1999.
7. *Todo lo que nunca deseó estudiar sobre biotecnología molecular y que tampoco quiso preguntar*. F. García Olmedo 2000. Revista de Libros 43-44: 28-31.
8. *Molecular Biotechnology (2nd edition)*. B. R. Glick and J. J. Pasternak, 1998. ASM Press, Wahington D.C., USA.

AUTORES

PILAR CARBONERO ZALDUEGUI

Doctor Ingeniero Agrónomo. Catedrática de Bioquímica y Biología Molecular en la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid. Es miembro de la *European Molecular Biology Organization* (EMBO) y Directora del Programa de Doctorado de Biotecnología Agraria y Forestal de la Universidad de Chile. Ha sido investigadora en el INIA y en el *College of Agriculture* de la Universidad de Minnesota, USA, vicepresidente de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular, miembro del EMBO *Membership and Publications Committee*, miembro de la Comisión de Biología y Medicina del CSIC, miembro del Consejo Científico del IVIA, miembro de la Comisión Nacional de Bioseguridad, Directora del Departamento de Biotecnología de la Universidad Politécnica de Madrid y Directora de la División de Genética Molecular de Plantas del Centro Nacional de Biotecnología. Ha recibido el 'Premio de Investigación de la Fundación General de la UPM', el 'Premio AMAVI a las Ciencias' y la 'Medalla de la Universidad Politécnica de Madrid'. Es miembro de la Real Academia de Ingeniería de España.

FRANCISCO GARCÍA OLMEDO

Ldo. en Química, Doctor Ingeniero Agrónomo. Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular, Univ. Politécnica de Madrid. Es miembro de la *European Molecular Biology Organization* (EMBO) y de los consejos científicos del CSIC y del IMIA. Ha sido profesor visitante y *honorary fellow* de la Universidad de Minnesota, miembro de los consejos cientí-

ficos de EMBO, del *Max Plank Institut für Pflanzenzuchtung* de Colonia, de la Comisión para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología de la CEE, CODEST, y de la Comisión Asesora Nacional de Ciencia y Tecnología, presidente de la Comisión de Manipulación Genética de EUCARPIA y consultor de la Oficina de Política Científica del Primer Ministro de Bélgica. Ha recibido el 'Premio de la Real Academia de Ciencias' y el 'Premio a las Ciencias' de la CEOE. Es miembro de la *Academia Europaea* y de la Real Academia de Ingeniería de España. Es autor de los libros *La tercera revolución verde*, Debate, 1998 (trad. Ital. IlSole/24Hore, 2000); *Entre el placer y la necesidad. Claves para una dieta inteligente*, Crítica, 2001) y el poemario *Natura según Altroío* (Huerga & Fierro, 2002).