CULTIVO IN VITRO



Dra. Ing. Ftal. Marcela Ruscitti
INFIVE (Instituto de Fisiología Vegetal)
UNLP – CONICET
marcelaruscitti@gmail.com

BIOTECNOLOGIA

CULTIVO *IN VITRO DE TEJIDOS*

MICROPROPAGACION

(principal aplicación comercial)



Biotecnología

Es la aplicación de organismos vivos para la resolución de problemas de interés a la comunidad.

Puede ser clasificada en:

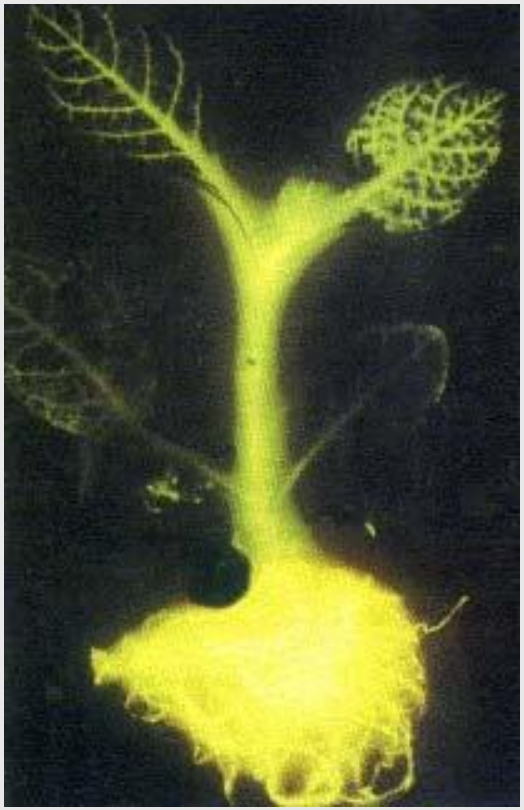
- Biotecnología en salud humana
- Biotecnología animal
- Biotecnología industrial
- **Biotecnología vegetal**
- Biotecnología ambiental

Biotecnología vegetal

Permite producir mas rápidamente nuevas variedades de plantas con características mejoradas, ***mayor rendimiento, tolerancia a condiciones adversas, resistencia a herbicidas, control de plagas.***

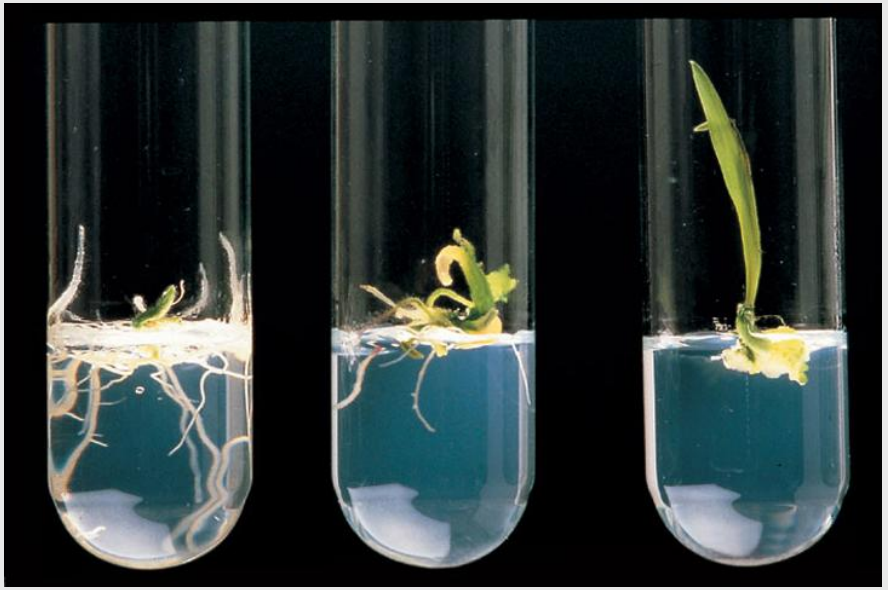
En 2008 un equipo científico de la Universidad de California creó una planta de tabaco que brilla, utilizando la enzima luciferasa extraída de la luciérnaga.

Glowing Plants



Cultivo in vitro de tejidos vegetales





¿Qué es el cultivo de tejidos vegetales *in vitro?*

Es el cultivo en medio nutritivo, bajo condiciones asépticas, de plantas, semillas, embriones, órganos, tejidos, células y protoplastos de plantas superiores.

Existen tres conceptos básicos que fundamentan el cultivo *in vitro* de células y tejidos vegetales:

- **Totipotencialidad celular**

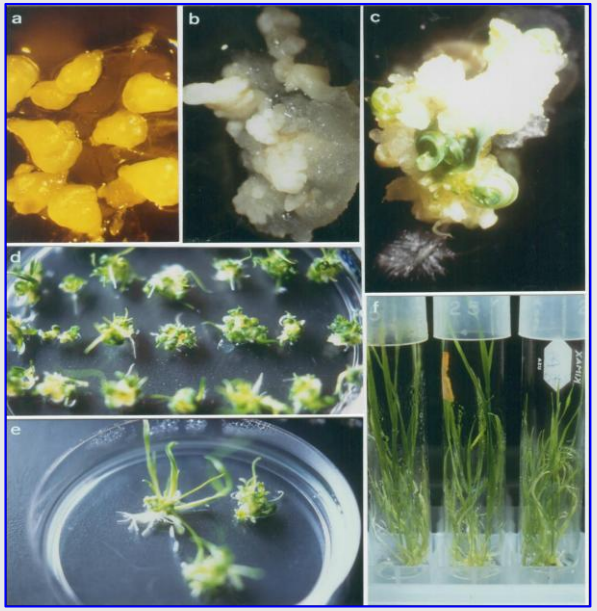
- **Desdiferenciación / Rediferenciación**

- **Balance de reguladores del crecimiento**

- **La teoría de la totipotencialidad celular, enunciada por Haberlandt a principios del siglo XX, postula que toda célula vegetal individual es capaz de regenerar una planta entera a partir de un cultivo *in vitro*, sin importar el grado de diferenciación alcanzado. Para ello se requieren condiciones específicas referidas al medio del cultivo, relaciones hormonales, temperatura, fotoperíodo, etc.**

- **La desdiferenciación consiste en la transformación y pérdida de las características de especialización de un tipo celular para dar lugar a células de tipo meristemático. El siguiente paso involucrado en la regeneración de una planta es la redifereciación de las células previamente desdiferenciadas.**

- **Todo proceso de diferenciación está regulado por el balance entre diferentes tipos de reguladores del crecimiento, fundamentalmente de auxinas y citocininas.**



Industria del cultivo in vitro

- A partir de los avances en la regeneración de plantas in vitro se desarrolló toda una industria que abarca desde la micropropagación hasta la transformación genética.

- En la actualidad existen mas de 600 compañías en el mundo con una producción de **mas de 500 millones de unidades por año**

BIOFÁBRICAS





¿Qué es una biófabrica?

Es un lugar para la producción a gran escala de plantas y semillas mejoradas

23 de agosto de 2018 / **NOTICIA**

Se inauguró la Biofábrica UNAHUR

La Universidad Nacional de Hurlingham inauguró la Biofábrica UNAHUR. Se trata de un laboratorio de micropropagación in vitro de especies vegetales que estará destinado a tareas de docencia, investigación y extensión universitaria. Participó el Director del INTA AMBA Gustavo Tito.



ArgenBio

Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología

_Biotecnología
en respuesta a un mundo en crecimiento

_Aplicaciones
la biotecnología en nuestra vida cotidiana

_Suscríbase
reciba cada semana las novedades de ArgenBio en su correo electrónico

TRANSGÉNICOS 20 años

Hace dos décadas que los transgénicos están en nuestra mesa. Enterate más:
Transgenicos20.ArgenBio.org

- Inicio
- Acerca de ArgenBio
- Novedades
- La biotecnología
- Cultivos aprobados y adopción
- Alimentos Transgénicos
- Aplicaciones
- Preguntas Frecuentes
- Biblioteca
- Glosario
- Links recomendados
- Educación
- Para periodistas
- Contáctenos

NOVEDADES EN ARGENTINA

Instituto Agrotécnico de Buenos Aires lleva adelante una biofábrica

Publicado el : 09-05-2012

Se trata del Instituto Agrotécnico "San José Obrero" de la ciudad de Darregueira, Provincia de Buenos Aires, que cuenta con un laboratorio de micropropagación clonal de plantas, donde las técnicas empleadas permiten multiplicar especies como kiwi, berries, banano, ananá, caña de azúcar, vid, stevia, aromáticas, ornamentales, entre otras.

El emprendimiento de la Biofábrica "VitroAgro", en el Agrotécnico perteneciente a la Congregación de los Hermanos Maristas, permite la multiplicación masiva de plantas alcanzando uniformidad genética y elevado nivel de sanidad por medio de sistemas tradicionales e innovadores de micro propagación.

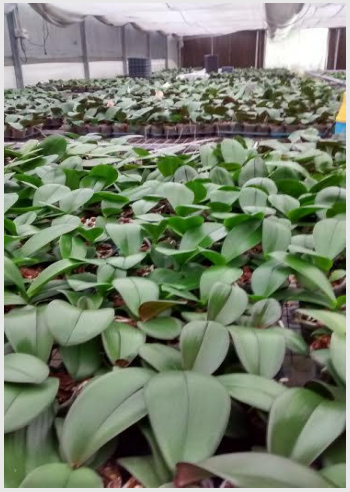
Áreas y equipamiento
Las técnicas empleadas permiten trabajar sobre plantas de especies como: kiwi, berries, banano, ananá, caña de azúcar, vid, stevia, aromáticas, ornamentales, entre otras, siguiendo el siguiente procedimiento:

OTROS TITULARES

- Con biotecnología sustentable, investigadores argentinos producen un compuesto antitumoral
- Instituto Agrotécnico de Buenos Aires lleva adelante una biofábrica
- "Ciencia, una política de Estado"
- EE.UU. aprobó el primer medicamento para uso humano fabricado por una planta transgénica
- México y su continuo aumento en la adopción

Laboratorio *in vitro* de orquídeas: una biofábrica en Villa Elisa

















También existen biofábricas móviles



Organización del laboratorio de cultivo de tejidos

- área de preparación (balanzas, medidor de pH, heladera, destilador y bidestilador de agua)
- área de lavado y esterilización (autoclave, estufa, lavavajillas)
- área de transferencia o siembra (flujo laminar)
- área de incubación o crecimiento (control de temperatura, iluminación y humedad relativa)
- área de observación (microscopio, lupa)
- invernáculo



Esta organización es necesaria para mantener las condiciones de asepsia

Laboratorio de cultivo de tejidos



AUTOCLAVE





FLUJO LAMINAR DE AIRE ESTERIL

Condiciones de incubación

- Temperatura

- Luz

  Calidad

  Cantidad

  Fotoperíodo



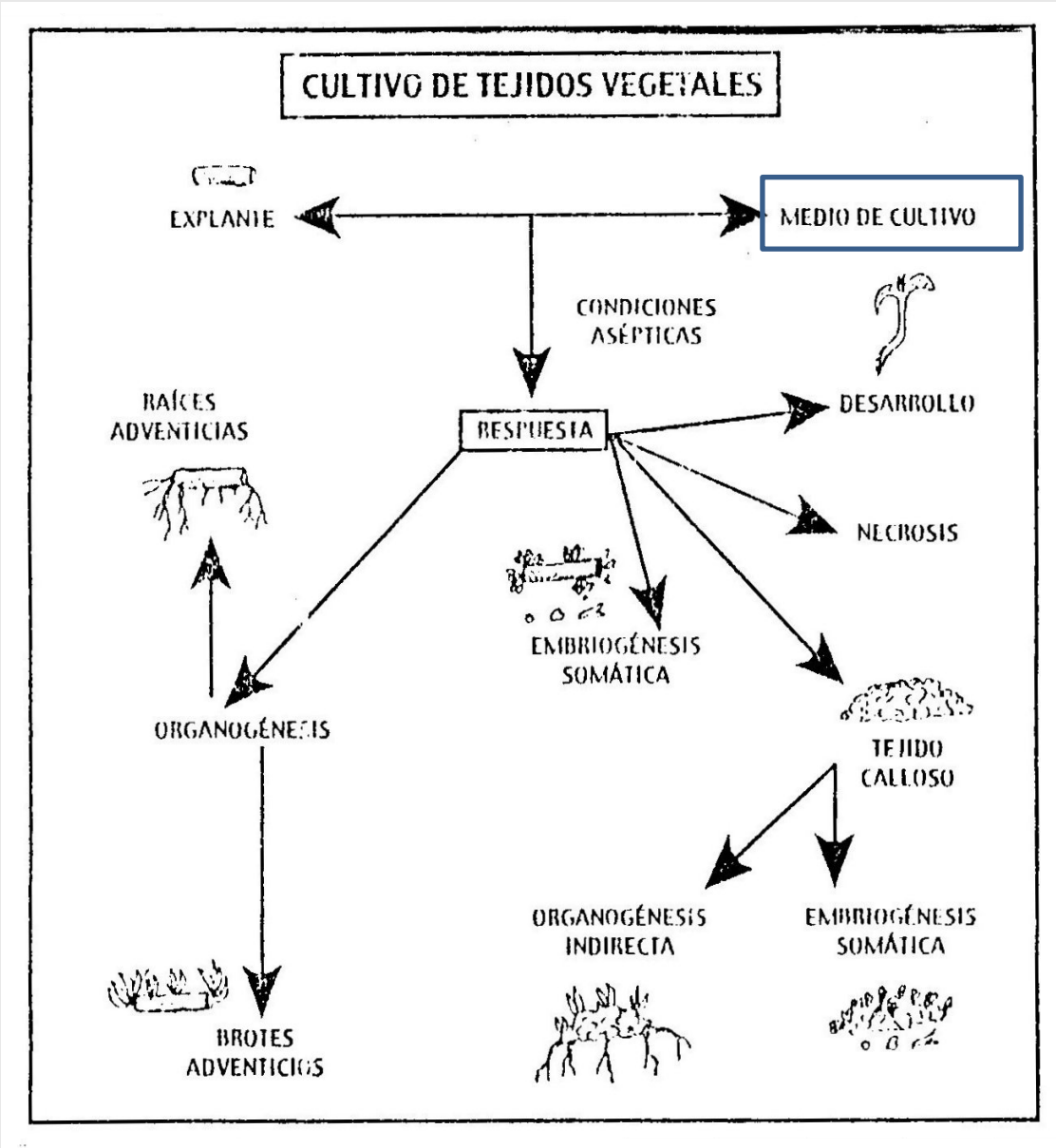




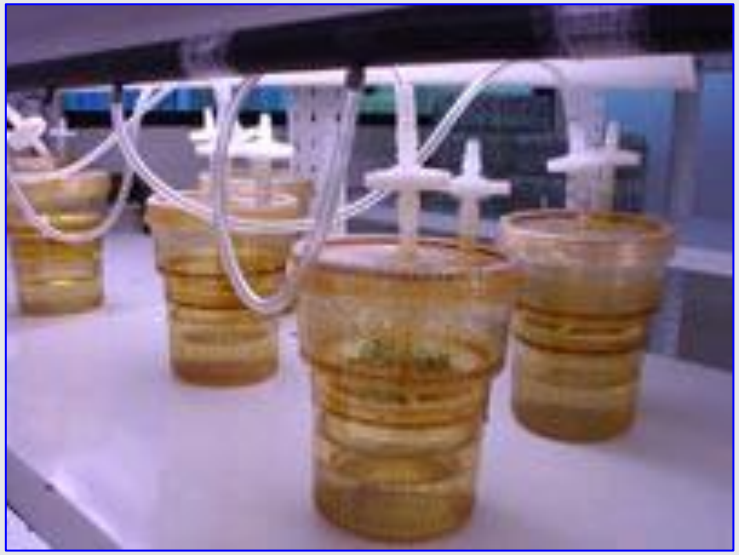
El CTV requiere una infraestructura mínima especializada y condiciones controladas de cultivo

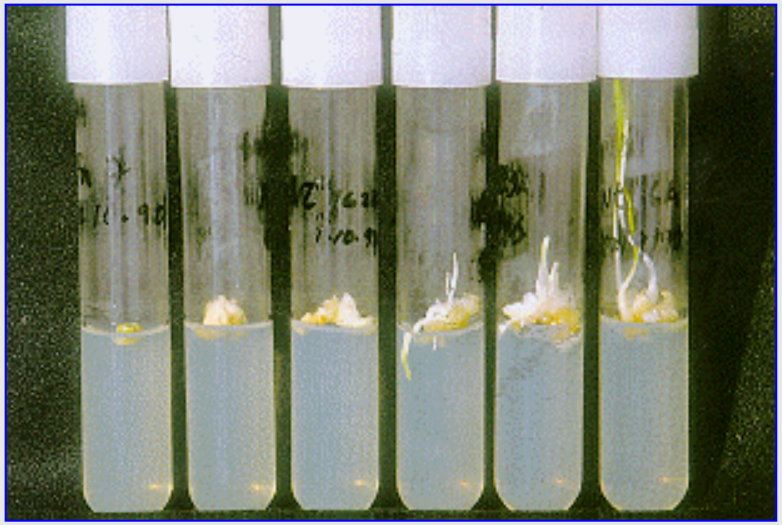
- **Laboratorio: preparación de medios**
  - Area de preparación de medios
  - Area de lavado y esterilización
  - Cuarto estéril
  - Cámara de cultivo
  - Area de rusticación
- **Material vegetal: explantos**
  - Plantas madres seleccionadas (preacondicionamiento)
  - Explantos (elección, disección, esterilización, etc.)
- **Condiciones de cultivo**
  - Asepsia
  - Recipientes
  - Temperatura
  - Luz y fotoperíodo

¿Cómo lograr un cultivo de tejidos vegetales?

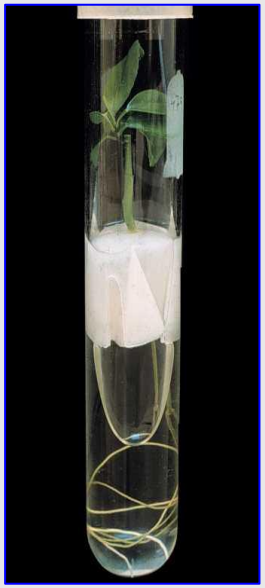


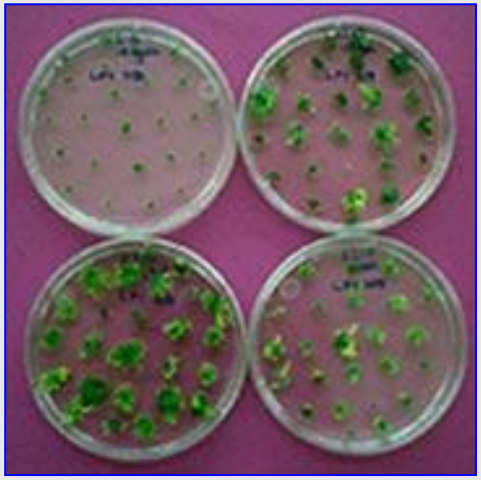
Medios de cultivo: tipos





Medios líquidos





Medios semisólidos

MEDIO DE CULTIVO

Plantines de caña de azúcar creciendo en biorreactores (sistema RITA)



MEDIO DE CULTIVO

Propagación de plantines de ananá mediante inmersión temporaria en biorreactores



Composición del medio de cultivo

- **Agua destilada:** representa el 95% del medio

- **Fuente de carbono:** generalmente se usa sacarosa. La fuente de carbono se necesita porque los explantos no son completamente autótrofos

- **Sustancias inorgánicas:** macroelementos (N, P, K, Ca, Mg, S) y microelementos (Fe, Co, Zn, Ni, B, Al, Mn, Mo, Cu, I), en una proporción adecuada según la planta elegida

- **Vitaminas:** Vitaminas B1, B2, B6, vitamina H, vitamina E, ácido fólico, ácido nicotínico, entre otras.

Composición del medio de cultivo

- **Hormonas y reguladores del crecimiento:**

Auxinas: promueven la elongación celular, la formación de callos y raíces adventicias, inhiben la formación de brotes axilares adventicios.

Citocininas: promueven la división celular, regulan el crecimiento y el desarrollo de los tejidos vegetales.

Otras: giberelinas, ácido abscísico, etileno.

- **Mezclas de sustancias poco definidas:** extracto de levadura, extractos vegetales.

- **Materiales inertes:** se usan como soporte: agar, agarosa, otros polisacáridos, lana de vidrio, papel de filtro, arena.

Reguladores de crecimiento

- **Grupos básicos de reguladores del crecimiento:**

  - **Auxinas**
  - **Citocininas**
  - **Giberelinas**
  - **Acido abscísico**
  - **Etileno**

- **Generalidades:**

  - **Actúan a bajas concentraciones**

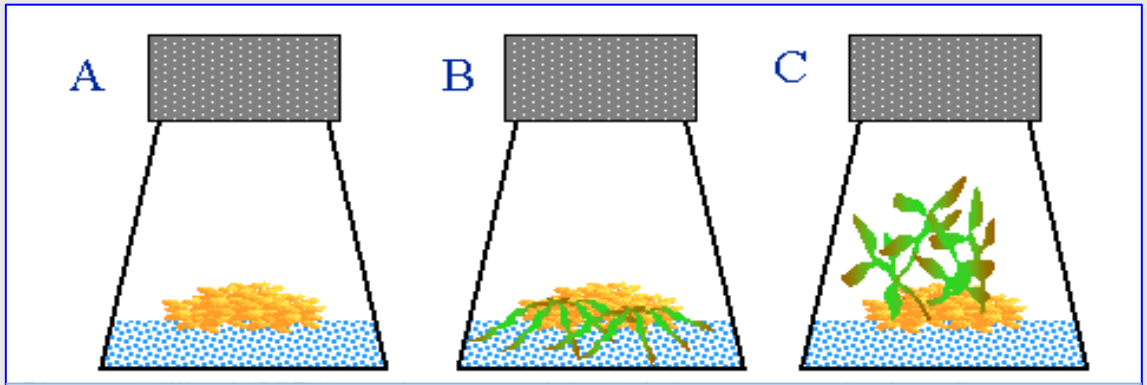
  - **Interactúan unos con otros (los resultados están determinados por las concentraciones relativas entre las diferentes fitohormonas).**

  - **Los reguladores endógenos del crecimiento están presentes en la planta durante todo su ciclo de vida pero su concentración fluctúa. Su concentración relativa varía en función del estado fisiológico de la planta y en cada uno de los órganos de ésta.**

  - **Están involucrados en numerosos procesos fisiológicos.**

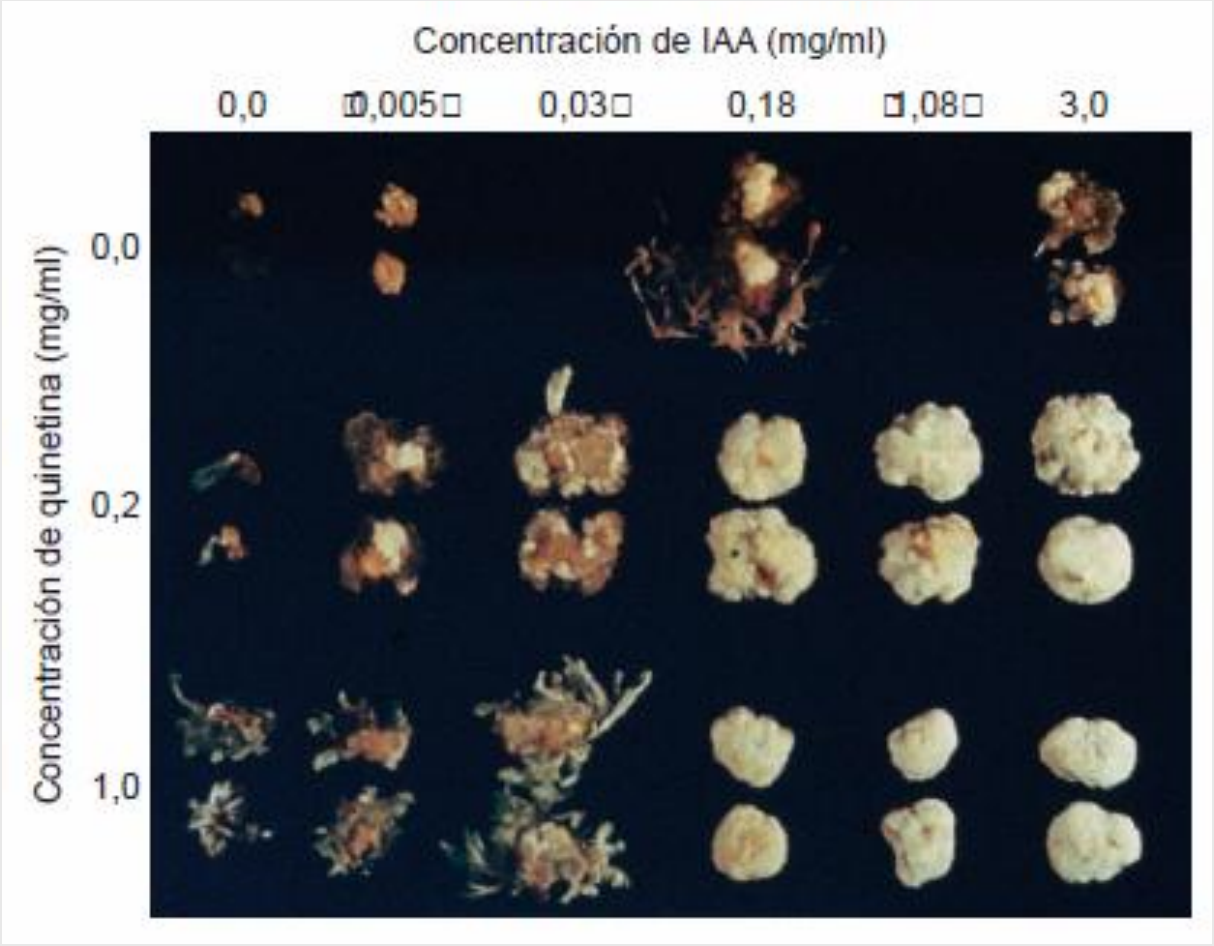
Uso de Hormonas y Reguladores

Importancia del balance hormonal:



A: Auxina / Citocinina = 1 callo
B: Auxina / Citocinina > 1 raíz
C: Auxina / Citocinina < 1 brote

Importancia del balance hormonal

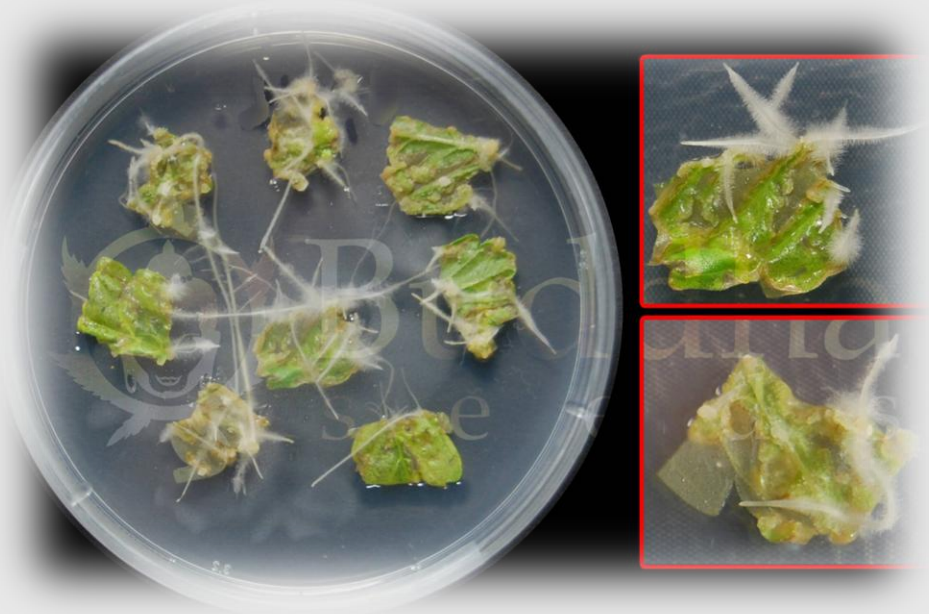


Callos, brotes y raíces









Medios de cultivo: composición general

Compuestos inorgánicos
Macronutrientes: NO_4^- , PO_4^{3-} , K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, SO_4^{2-}
Micronutrientes: Fe^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+}, Mo^{2+}, Co^{2+}, I^-

Carbohidratos
Sacarosa, glucosa, mio-inositol

Vitaminas
Tiamina (B1)
Piridoxina
Acido nicotínico (C)
Biotina

Aminoácidos
Glicina

Reguladores del crecimiento
Auxinas
Citoquininas
Giberelinas

Soporte inerte (medios semisólidos)
Agar (0,7 a 1%)
Gelrite®

pH
5,6 – 5,8

Esterilización
1 atmósfera, 15 a 20 min en autoclave

Composición de medios de cultivo comúnmente usados

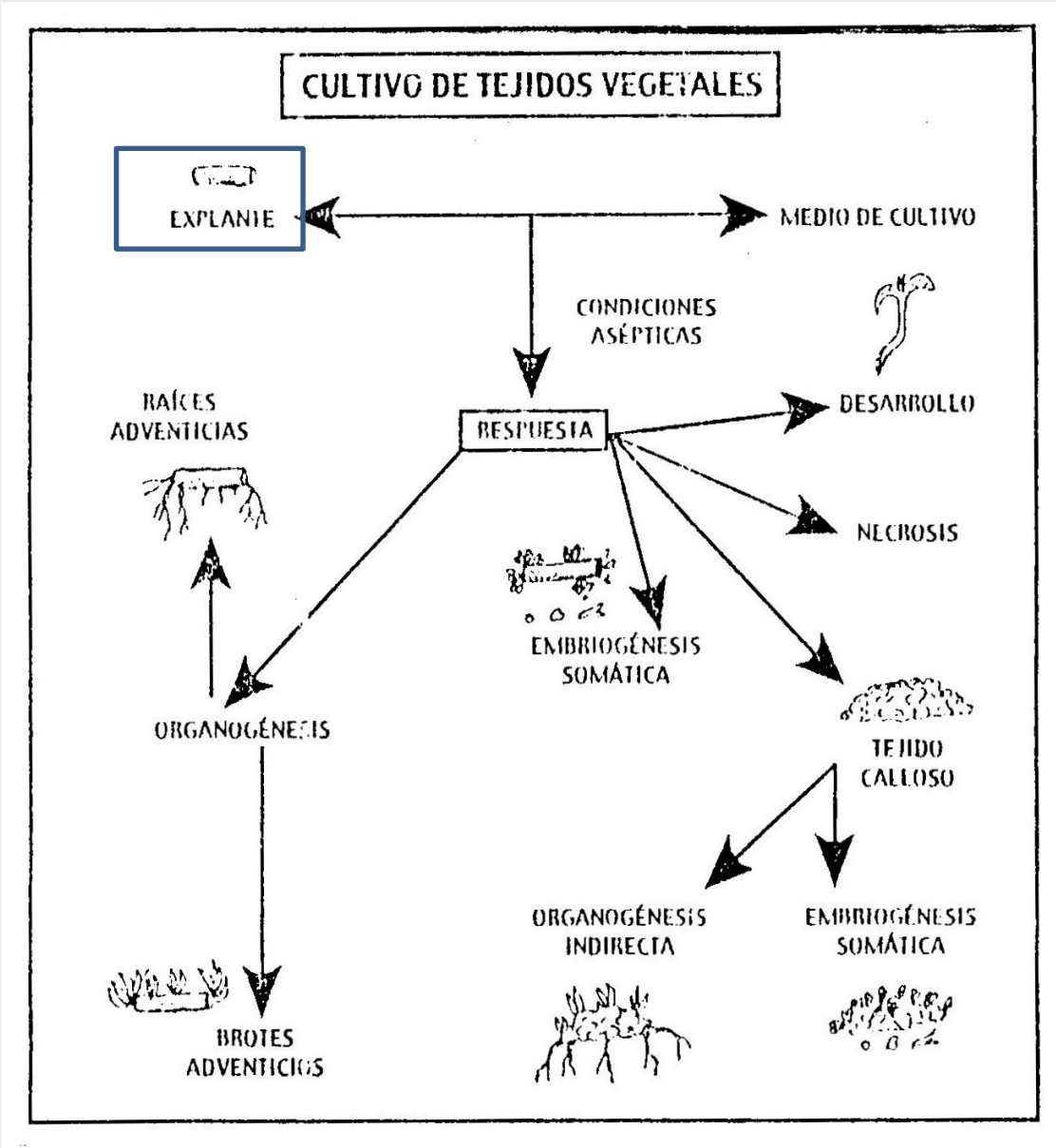
Es el más conocido

Compuesto	Concentración en el medio de cultivo (mg/L)				
	White	Schenk y Hildebrandt (SH)	Gamborg (B_5)	Heller	Murashige y Skoog
$Ca(NO_3)_2$	142	-	-	-	-
KNO_3	81	2.500	300	-	1.900
$NaNO_3$	-	-	-	600	-
NH_4NO_3	-	-	-	-	1.650
$NH_4H_2PO_4$	-	300	-	-	-
$(NH_4)_2SO_4$	-	-	134	-	-
$MgSO_4.7H_2O$	74	400	500	250	370
$CaCl_2.2H_2O$	-	200	150	75	440
KCl	65	-	-	750	-
KH_2PO_4	12	-	-	-	170
$NaH_2PO_4.H_2O$	-	-	150	125	-
$MnSO_4.H_2O$	-	10	10	-	-
$MnSO_4.4H_2O$	-	-	-	0,1	22,3
KI	-	1	0,75	0,01	0,83
H_3BO_3	-	5	3	1	6,2
$ZnSO_4.7H_20$	-	1	2	1	8,6
$CuSO_4$	-	0,2	0,025	-	-
$CuSO_4.5H_2O$	-	-	-	0,03	0,025
$NaMoO_4.2H_2O$	-	0,1	0,25	-	0,25

Composición de medios de cultivo comúnmente usados

Compuesto	Concentración en el medio de cultivo (mg/L)				
	White	Schenk y Hildebrandt (SH)	Gamborg B_5	Heller	Murashige y Skoog (MS)
$CoCl_2.6H_2O$	-	0,1	0,025	-	0,025
$AlCl_3$	-	-	-	0,03	-
$NiCl_2.6H_2O$	-	-	-	0,03	-
$FeCl_3.6H_2O$	-	-	-	1	-
$FeSO_4.7H_2O$	-	15	-	-	27,86
$Fe(SO_4)_3$	2,46	-	-	-	-
Sequestrene 330 Fe	-	-	28	-	-
Na_2EDTA	-	20	-	-	37,26
Mio-inositol	-	1.000	100	-	100
Tiamina-HCl	-	5	10	-	0,4
Acido nicotínico	-	5	1	-	-
Piridoxina-HCl	-	0,5	1	-	-
Extracto de Levadura	100	-	-	-	-
Sacarosa	20.000	30.000	20.000	-	30.000
pH		5,9	5,5		5,8

¿Cómo lograr un cultivo de tejidos vegetales?

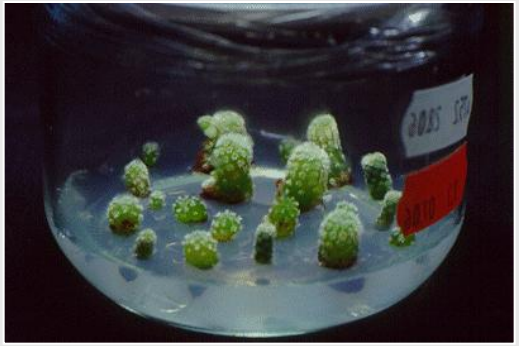


Explante:
Tejido separado de la planta madre y transferido a un medio artificial de crecimiento.









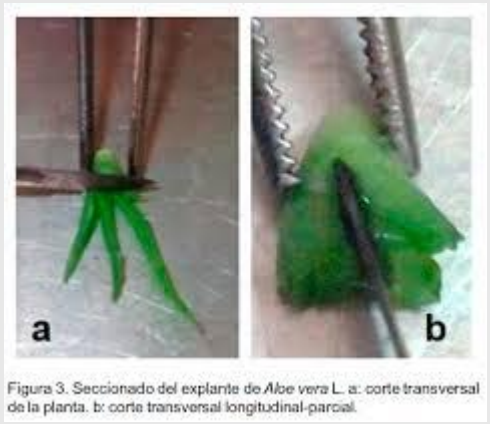
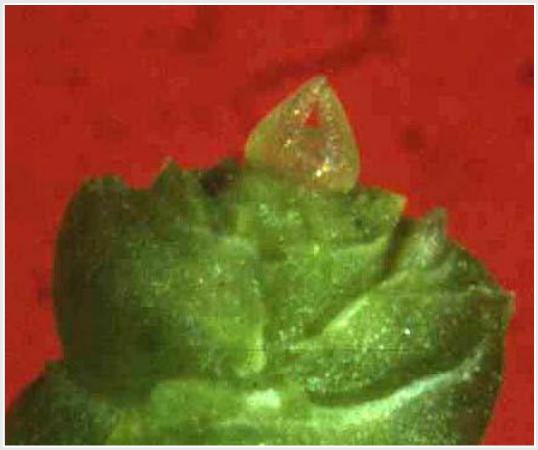


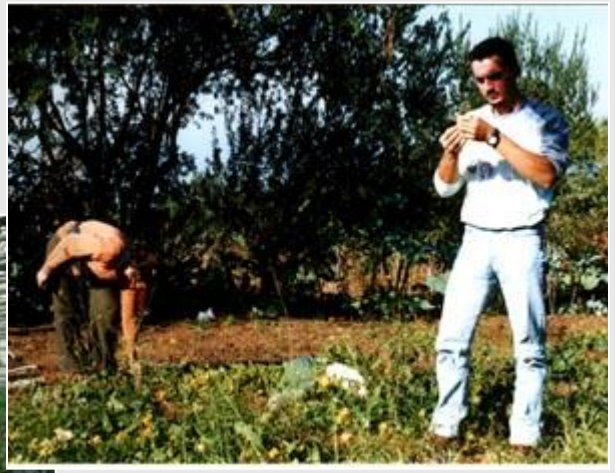
Figura 3. Seccionado del explante de *Aloe vera* L. a: corte transversal de la planta. b: corte transversal longitudinal-parcial.







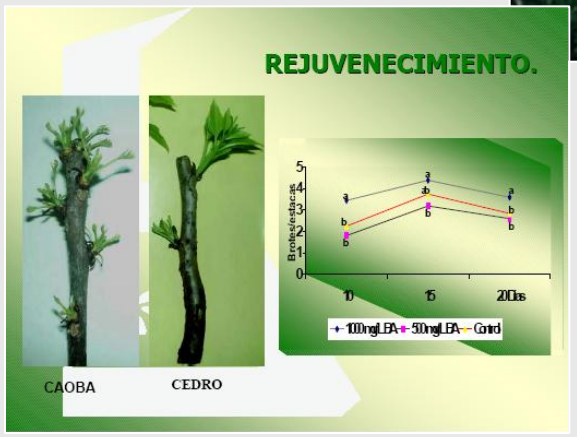
Fuente de Explante

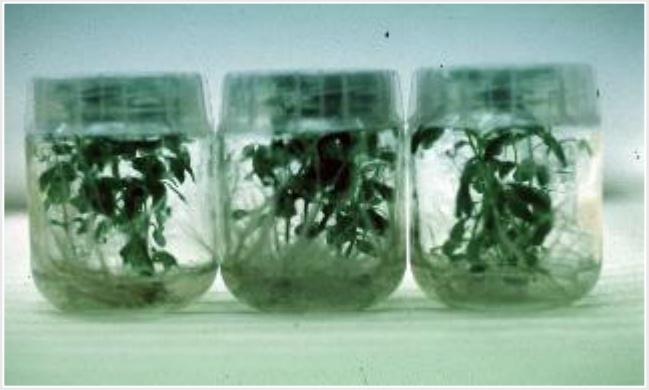


A campo



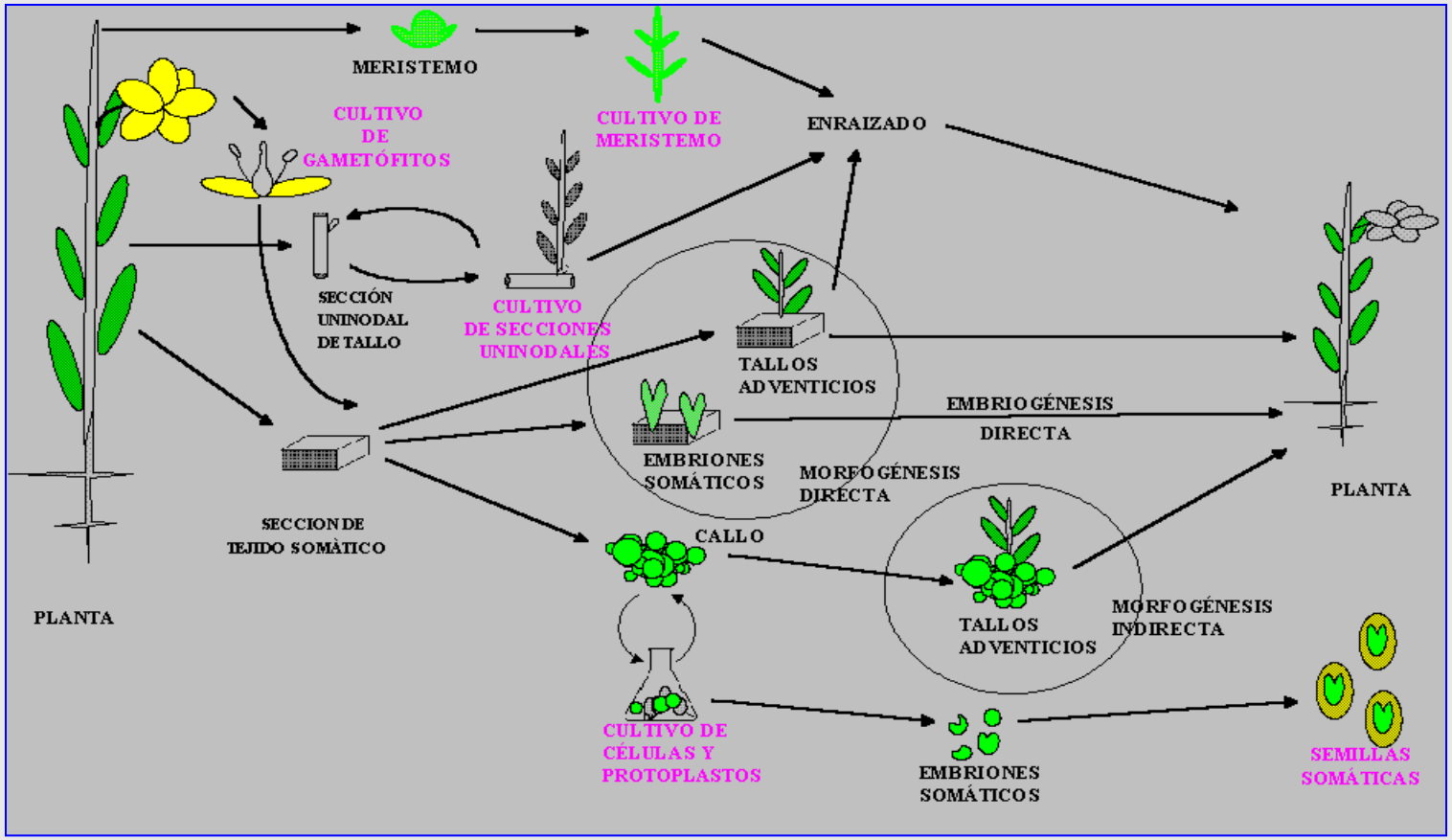
Invernadero





In vitro

TIPOS DE CULTIVOS *IN VITRO:*
respuestas según el explante utilizado



Existen dos posibles vías morfogenéticas para la diferenciación *de novo* de brotes o plantas completas

- **Posibles vías morfogenéticas:**

  - Organogénesis

  - Embriogénesis

- **Diferencias entre las dos posibles vías:**

- La organogénesis es de origen **pluricelular.** Un grupo o *cluster* de células del explanto inicial se desdiferencia inicialmente para luego rediferenciarse dando lugar a un órgano vegetal. No se obtienen por esta vía plantas completas.

- La embriogénesis se presupone de origen **unicelular.** Una célula del explanto se aísla y constituye el punto de partida para la obtención de un embrión somático. Se diferencian embriones o estructuras bipolares que completan cada una de las etapas implicadas en la ontogenia de un embrión cigótico. El resultado es una planta completa.

Morfogénesis

- **Organogénesis:** formación de órganos (tallos y raíces)
  - Directa
  - Indirecta (callo)

Dentro de la organogénesis pueden diferenciarse dos vías:

- La formación de yemas axilares
- La formación de yemas adventicias

- **Embriogénesis:** formación de embriones somáticos
  - Directa
  - Indirecta (callo)

Embriones somáticos: se originan a partir de células que no son el producto de la fusión de gametos. Son estructuras bipolares, que tienen un eje apical-radical, capaces de crecer y formar plantas normales

Embriogénesis somática

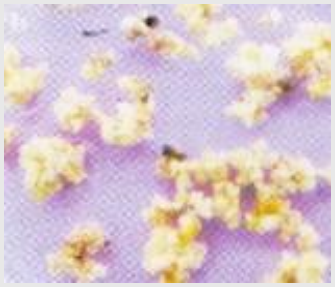
ETAPAS

- Inducción: formación de masas proembriónicas, con auxinas
- Histodiferenciación: embriones en estadío globular, de corazón, de torpedo, sin auxinas
- Maduración: embriones en estado cotiledonar, con ABA, desecación
- Germinación

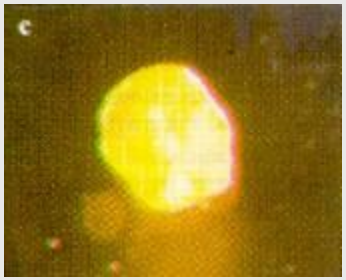
Embriogénesis somática



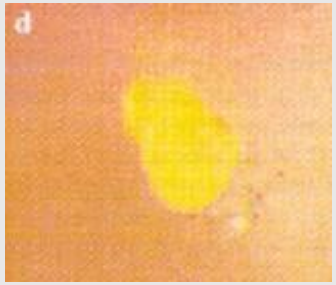
Callo embriogénico



embriones



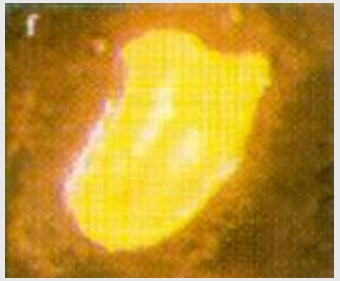
Embrión en estado globular



Embrión en estado de corazón

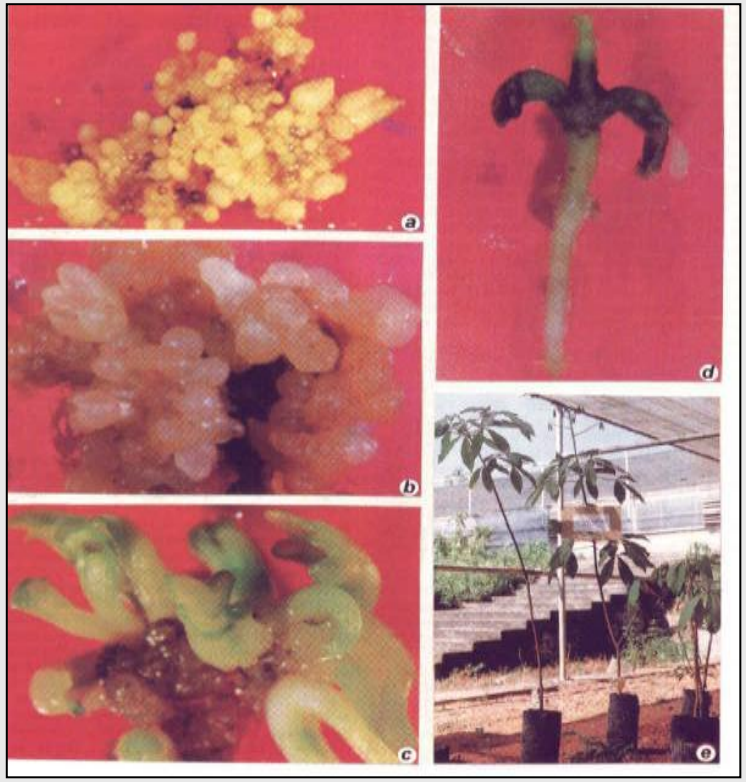


Embrión en estado de torpedo

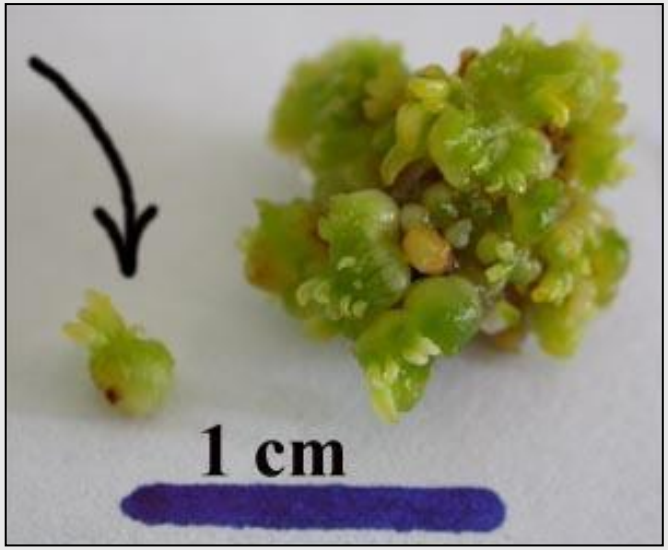


Embrión en estado cotiledonar

Inducción de la Embriogénesis Somática







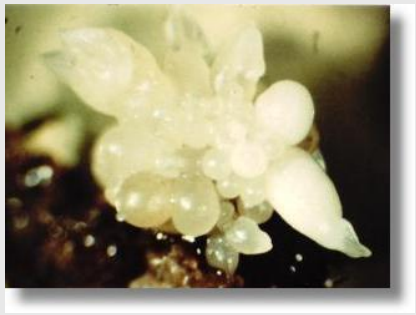
Embriogénesis somática

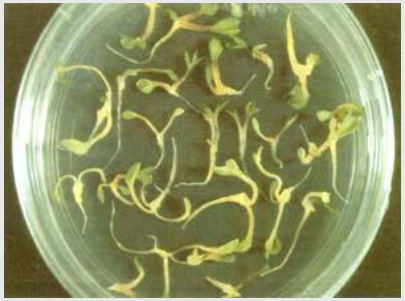




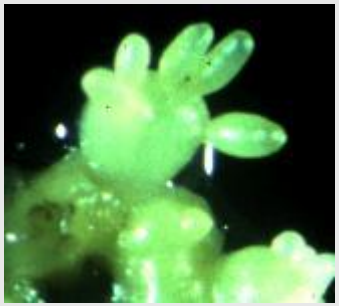












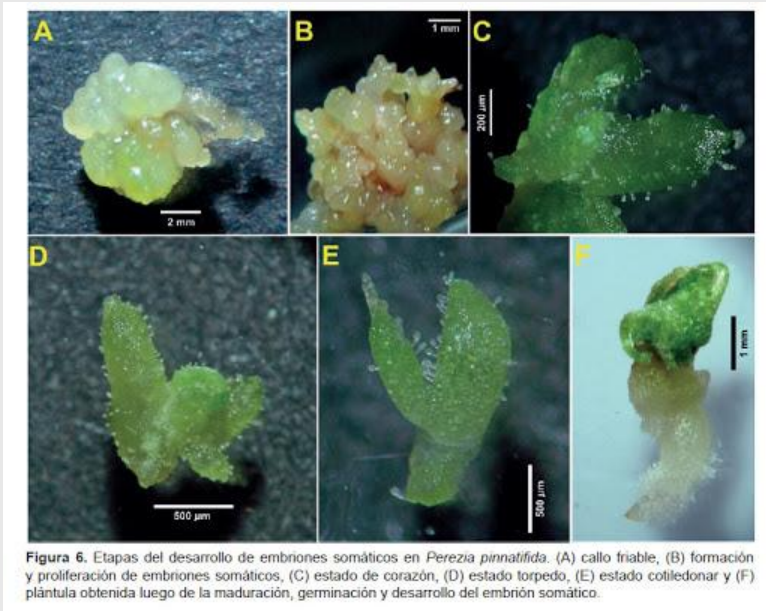
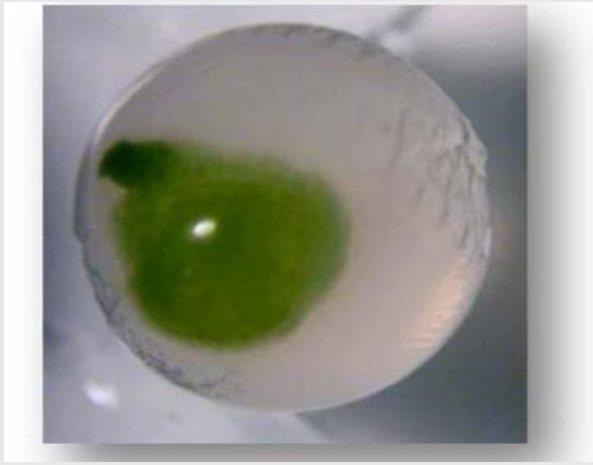
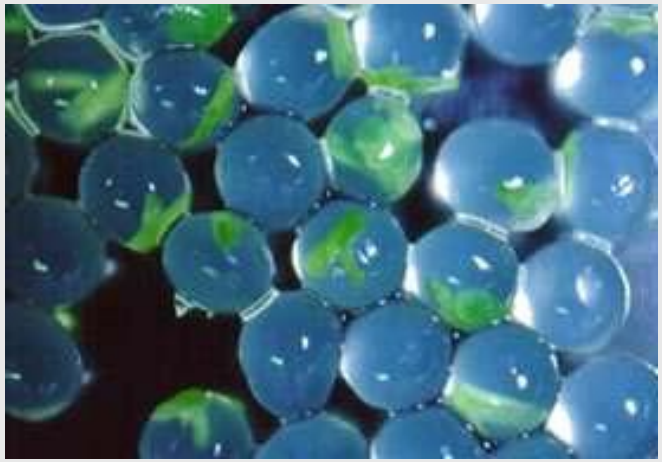


Figura 6. Etapas del desarrollo de embriones somáticos en *Perezia pinnatifida*. (A) callo friable, (B) formación y proliferación de embriones somáticos, (C) estado de corazón, (D) estado torpedo, (E) estado cotiledonar y (F) plántula obtenida luego de la maduración, germinación y desarrollo del embrión somático.

Embriogénesis somática
semilla artificial

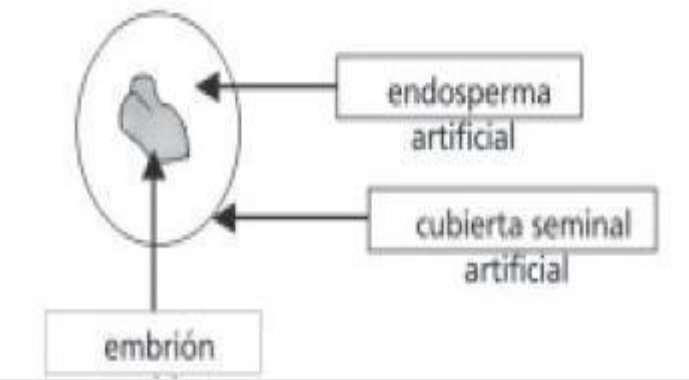


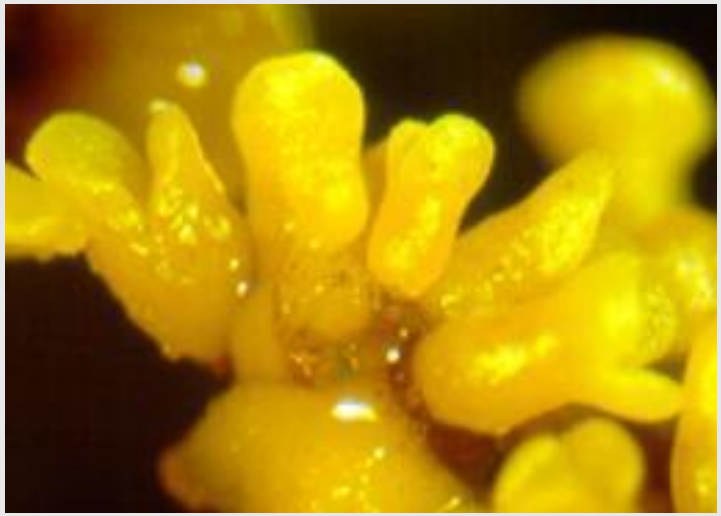




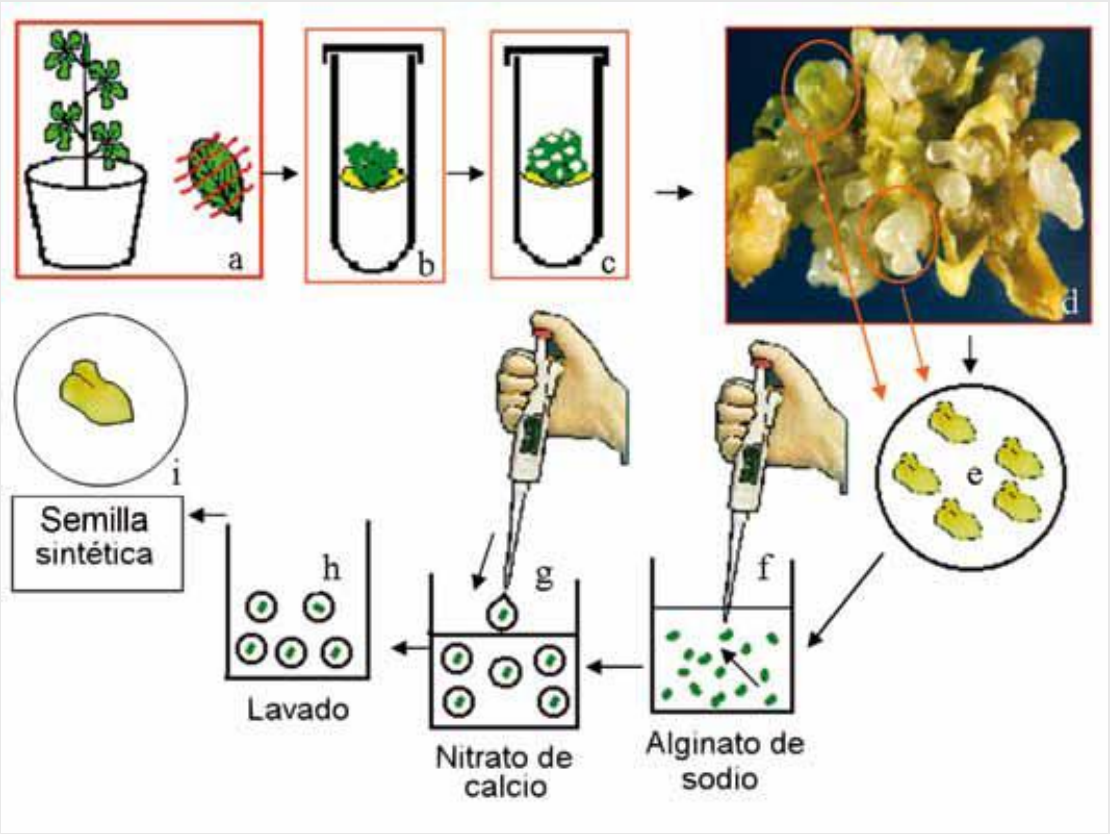
Embriones maduros encapsulados en alginato de sodio

Una semilla artificial es una estructura vegetal de origen asexual obtenida in vitro a partir del cultivo de tejidos y modificada, que intenta imitar una semilla natural.



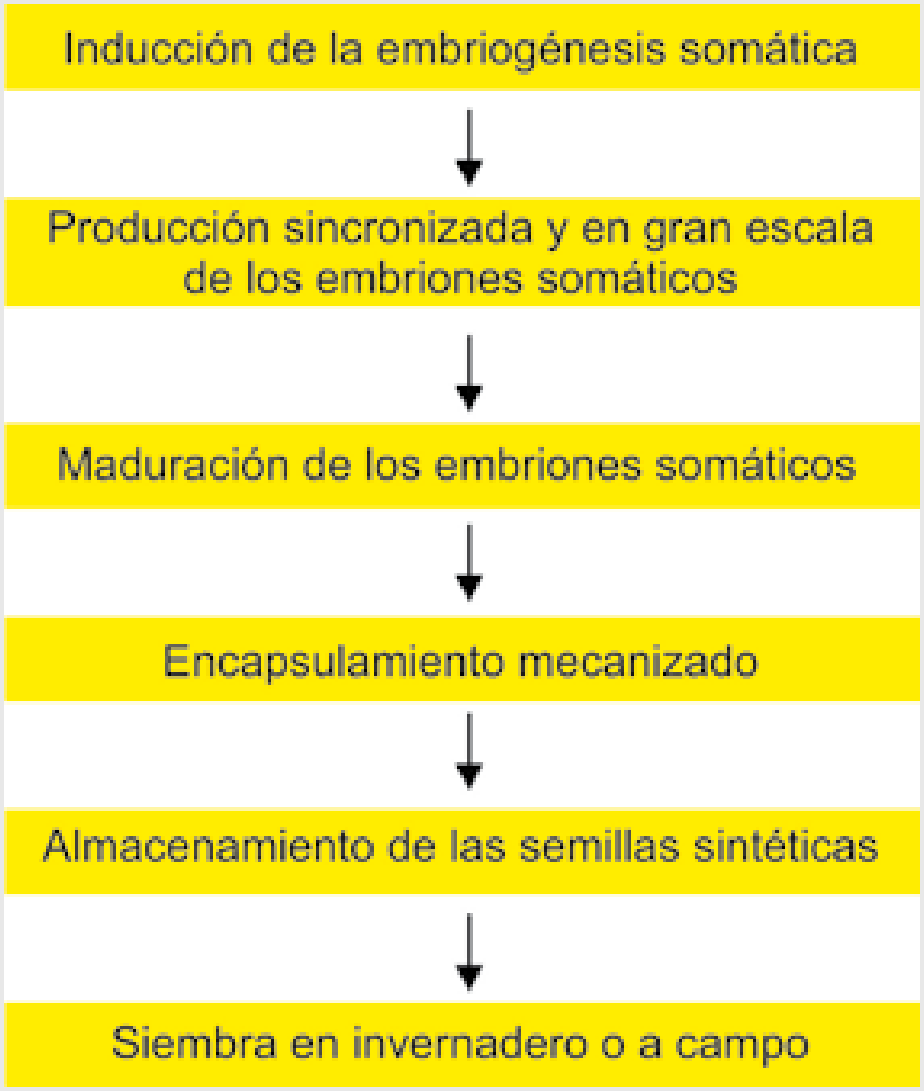


Semilla sintética



Inducción de la embriogénesis somática (a-d); selección de embriones somáticos (e); inmersión de los embriones en alginato de sodio (f); acomplejamiento con nitrato de calcio (g); lavado (h); semilla sintética (i)

Etapas en la producción de semillas sintéticas



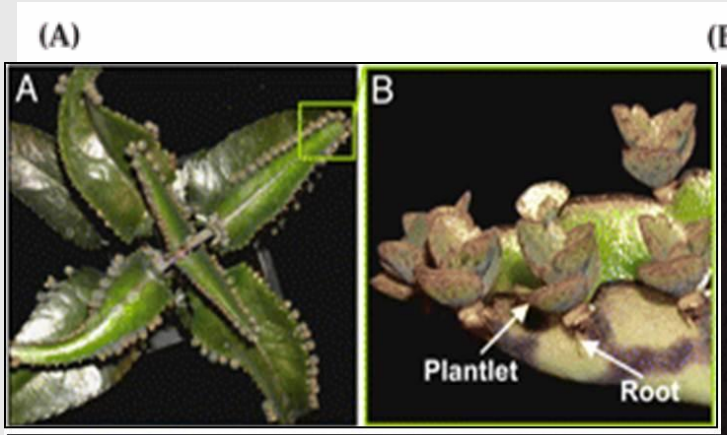
En 1 litro de medio líquido puede haber 2 millones de embriones ¡¡¡¡

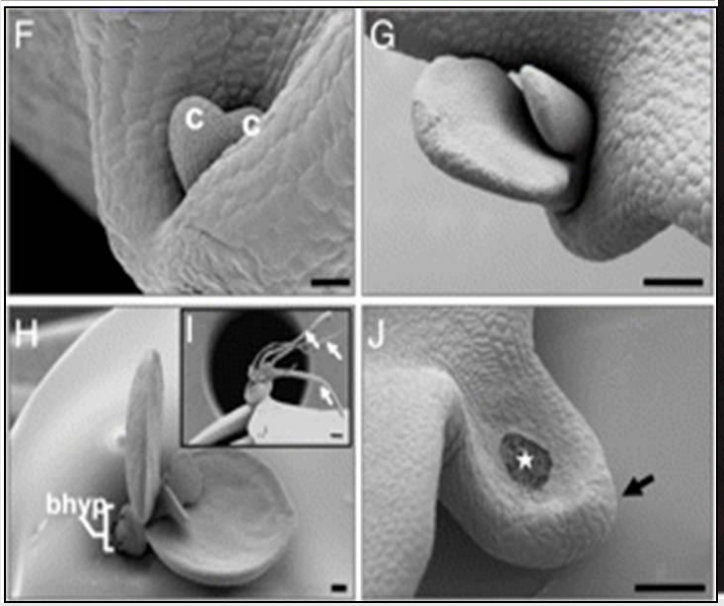
Embriogénesis somática natural: kalanchoe













Aplicaciones del cultivo in vitro

✓ Propagación masiva de plantas: principal aplicación comercial del cultivo de tejidos vegetales

✓ Obtención de plantas libres de patógenos (cultivo de meristemas, quimioterapia y termoterapia)

✓ Conservación de germoplasma

✓ Producción de metabolitos secundarios

✓ Mejoramiento genético mediante la inducción de mutaciones y selección in vitro: Variación Somaclonal

✓ Ingeniería genética

MICROPROPAGACIÓN

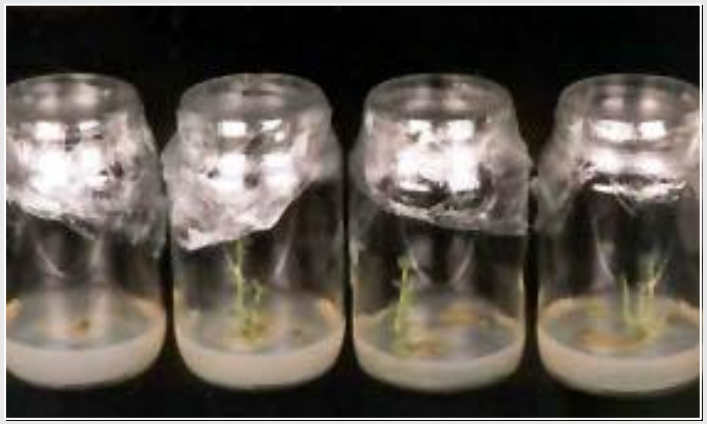


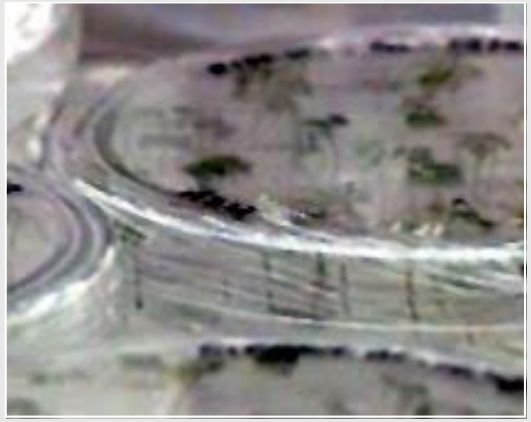
Ventajas:

- Multiplicación de gran número de plantas en cortos períodos de tiempo.
- Producción independiente de las condiciones ambientales.
- Incremento de los rendimientos debido al rejuvenecimiento y al saneamiento.
- Uniformidad en las plantas producidas.
- Mayor facilidad de comercialización.

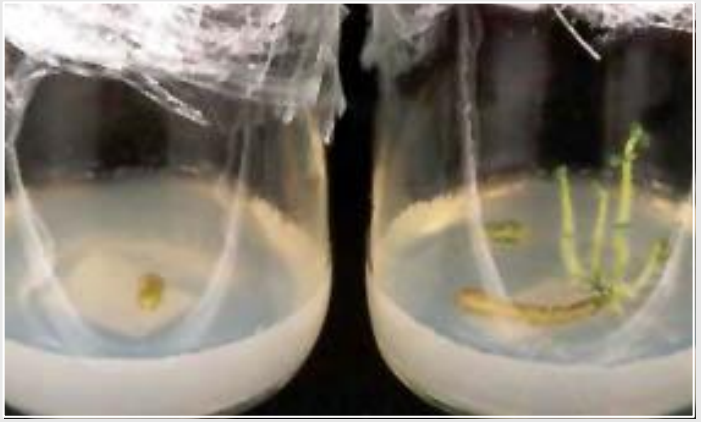
• La micropropagación vegetal, o propagación clonal masiva de plantas superiores, posibilita la obtención y cultivo de plantas a gran escala.

• Se realiza bajo estrictas condiciones de esterilidad en un medio sintético nutritivo y con control de temperatura, luz y fotoperíodo.









Etapas de la micro propagación vegetal (Murashige, 1974)



- **Iniciación**

  - Elección y fitoacondicionamiento de la planta madre
  - Elección del explanto inicial y de la formulación del medio de cultivo
  - Desinfección superficial de los explantos
  - Establecimiento del cultivo *in vitro*

- **Multiplicación**

  - Multiplicación del material *stock*

- **Enraizamiento**

  - Enraizamiento de los brotes obtenidos *in vitro*

- **Rusticación**

  - Pasaje de las plantas crecidas *in vitro* a las condiciones de maceta o a campo

Actualmente se incluyen otras fases:

FASE 0 : Preparación de la planta madre

FASE I : Establecimiento del cultivo en condiciones de asepsia

FASE II : Multiplicación de brotes

FASE III : Enraizamiento

FASE IV: Aclimatación



FASE 0:
PREPARACIÓN DE LA PLANTA MADRE



- Para poder establecer el cultivo en condiciones de asepsia, se deben obtener explantos con un nivel nutricional y un estado fitosanitario adecuado.



- Importancia del cuidado de las **plantas madres**

FASE I: ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO EN CONDICIONES DE ASEPSIA

- Lavado del material con agua corriente, eliminación de las partes muertas e infectadas de la planta.
- Introducción de la porción de planta en alcohol diluido al 80% durante unos segundos.
- Sumergir la planta en una solución de hipoclorito de sodio o Ca con un agente humectante durante 10-30 minutos.
- Enjuague del material con agua estéril para eliminar la solución de hipoclorito de sodio. El enjuague debe tener lugar bajo condiciones de asepsia, y suele realizarse en tres veces sucesivas de unos 2 minutos cada una.

Establecer cultivos viables y axénicos.



Los explantos deben ser esterilizados antes de ser establecidos en condiciones de cultivo

Protocolo tipo de esterilización superficial del material vegetal:

- Etanol 70%, entre 5 y 10 seg.

- Solución de hipoclorito de sodio (NaClO) de 5 a 20%, entre 5 y 30 min. Este paso puede ser reemplazado por el uso de soluciones diluídas de bicloruro de mercurio ($HgCl_2$), entre el 0,01 y 0,05%.

- Enjuagues con abundante H_2O estéril (4 ó 5 veces).

- En el caso del $HgCl_2$, el material se debe enjuagar sucesivas veces pues es difícil de eliminar.

Siembra en condiciones de esterilidad







Principales causas de contaminación:

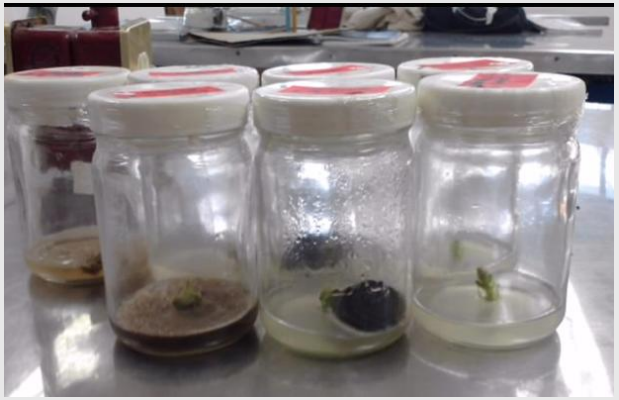
- Esterilización superficial inadecuada
- Manipulación
- Introducción de esporas por Trips



Se detecta fácilmente a simple vista a los pocos días.

Géneros de hongos más frecuentes:

- Aspergillus
- Candida
- Cladosporium
- Microsporium

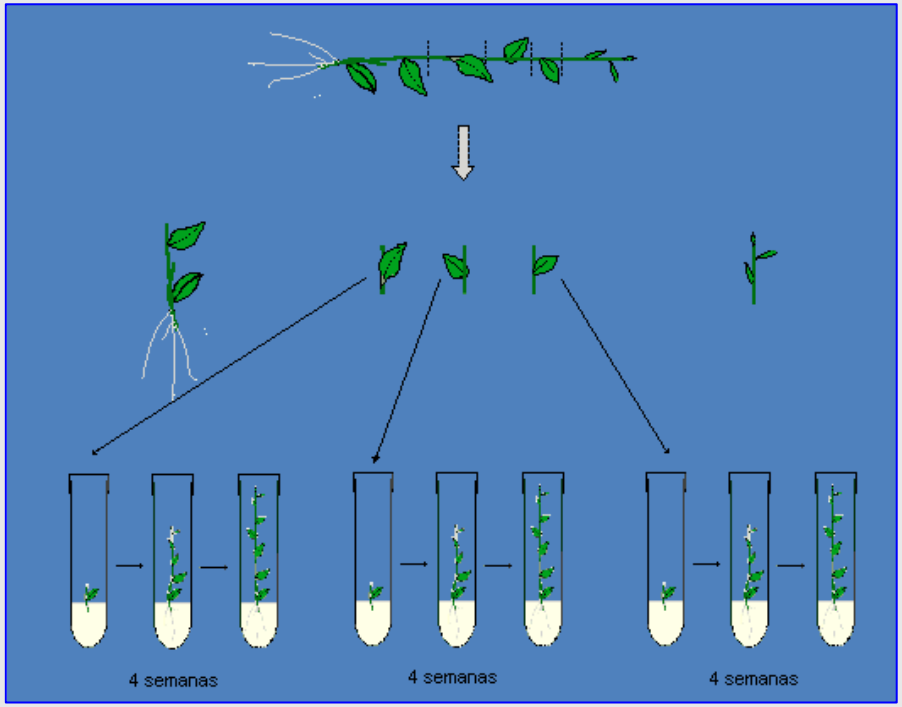


Géneros de bacterias más frecuentes:

- Agrobacterium
- Bacillus
- Enterobacter
- Pseudomonas
- Lactobacillus



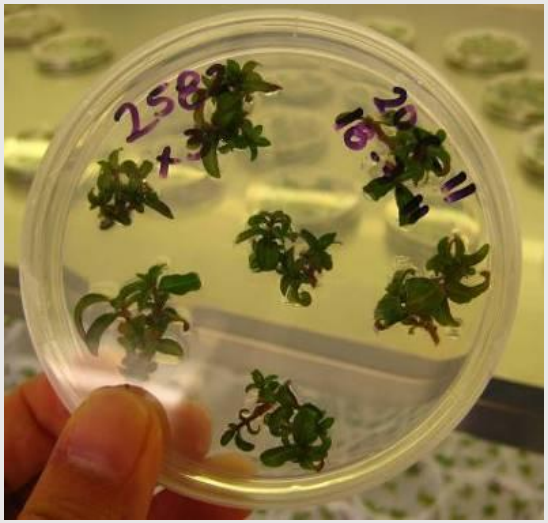
FASE II: MULTIPLICACIÓN DE LOS BROTES





MULTIPLICACIÓN DE BROTES







FASE III: ENRAIZAMIENTO DE LOS EXPLANTOS

ENRAIZAMIENTO

IN VITRO

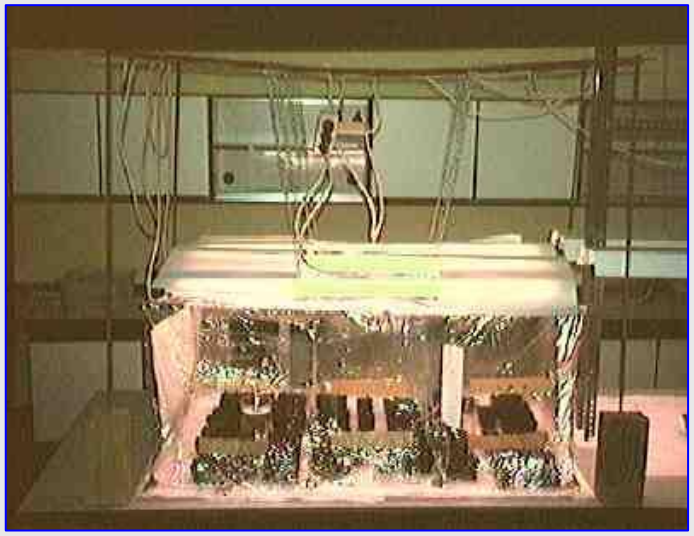
Se transfieren los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación a un medio libre de reguladores de crecimiento o que solo contenga auxinas. En general se disminuye al 50% la concentración de nutrientes





FASE IV:
ACLIMATACIÓN





Control de:

Temperatura

Humedad

Irradiancia

Presencia de patógenos

- Paulatina adaptación de las vitroplantas a las condiciones de invernadero.

- Fase de endurecimiento.



FASE IV:
ACLIMATACIÓN

Plantines de *Begonia rex*



Plantines de *Aloe listos para rusticar*



Aclimatación

- Optimizar la transferencia del ambiente in vitro a condiciones de invernáculo o campo.
- Minimizar pérdidas y acelerar el proceso.

PLANTAS OBTENIDAS IN VITRO:

Hojas delgadas

Tallos débiles

Raíces débiles y poco funcionales

Conexión tallo-raíz incompleta

Baja tasa fotosintética

PROCESO GRADUAL:

Disminución de la HR

Crecimiento autotrófico

Condiciones sépticas.



MICROPROPAGACIÓN

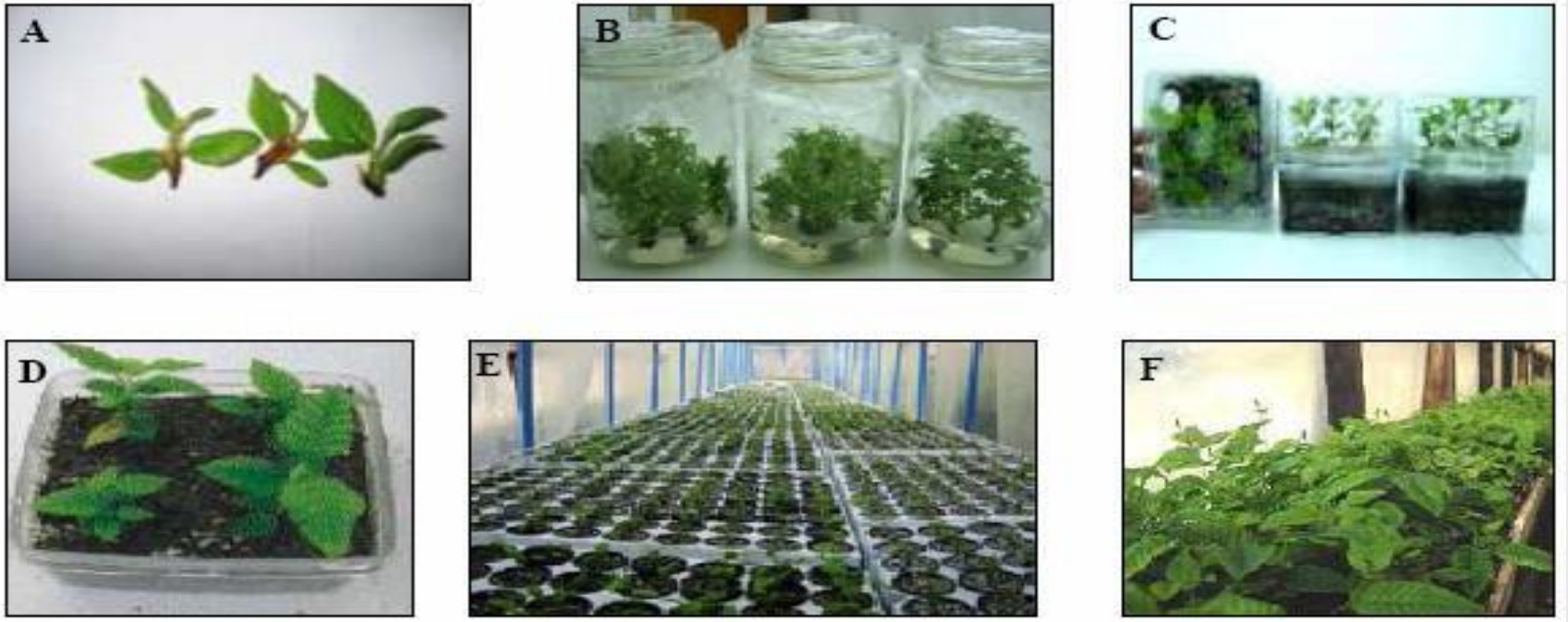


Figura 1. Etapas del proceso de micropropagación de raulí. A) explante inicial: brotes apicales; B) multiplicación de brotes; C) etapa de pre-aclimatación en laboratorio; D) plantas a transferir a invernadero; E) plantas bajo túnel plastificado en invernadero para mantener alta humedad; F) plantas después de tres meses en invernadero.

Figure 1. Stages of the rauli micropropagation process. A) initial explant: apical shoots, B) shoot multiplication; C) laboratory pre-acclimatation stage; D) plants to be transferred to the greenhouse; E) plants under plastic tunnel in greenhouse to maintain high humidity; F) plants after three months in greenhouse.

Micropropagación ***Melia azedarach var. gigantea L.***

A) Huerto semillero con ejemplares de seis años de edad, Misiones

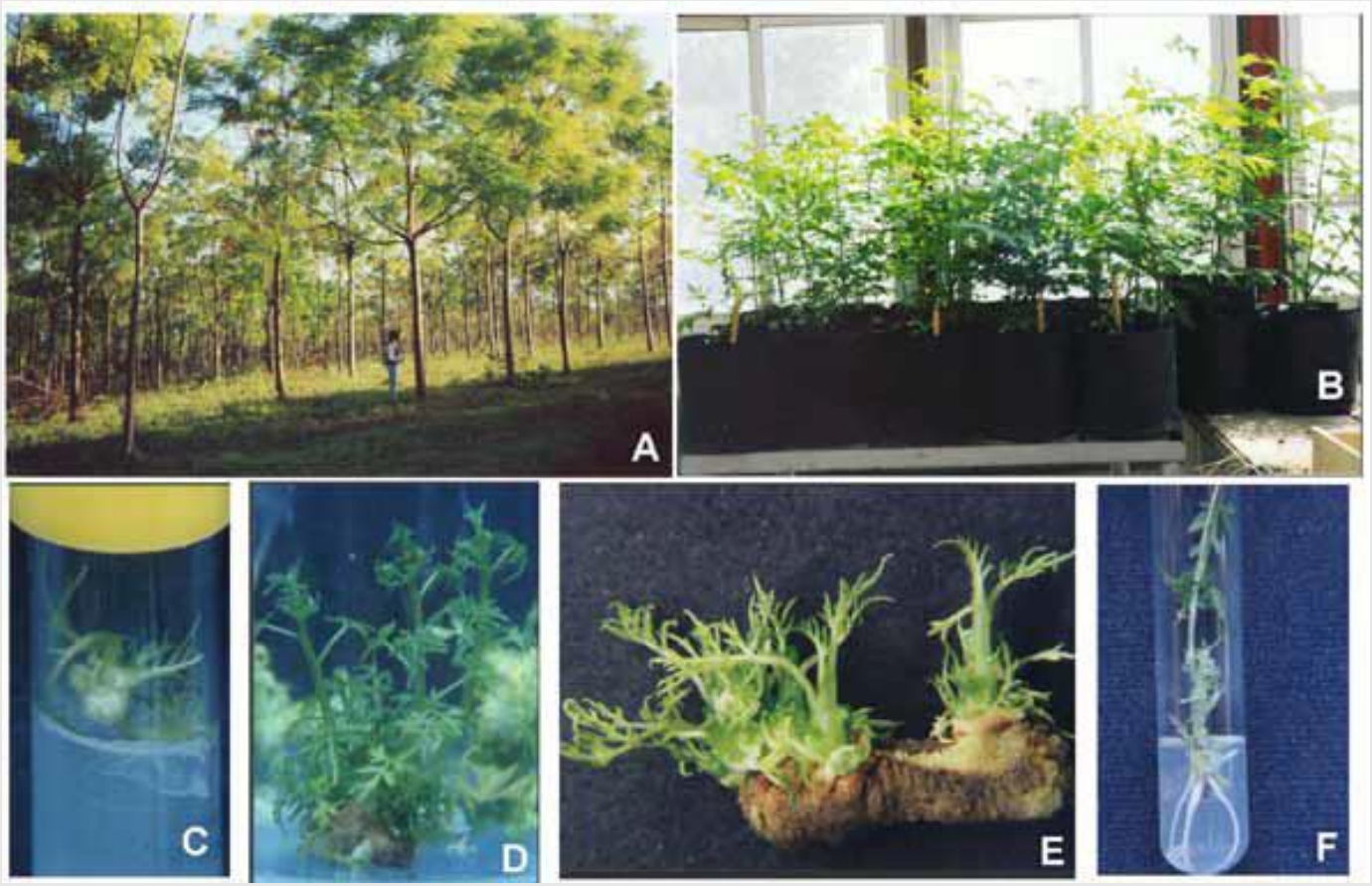
B) Etapa 0, plantas de 6 meses de edad en invernadero y utilizadas como donantes de meristemas.

C) Etapa 1: Establecimiento del cultivo.

D) Etapa de multiplicación

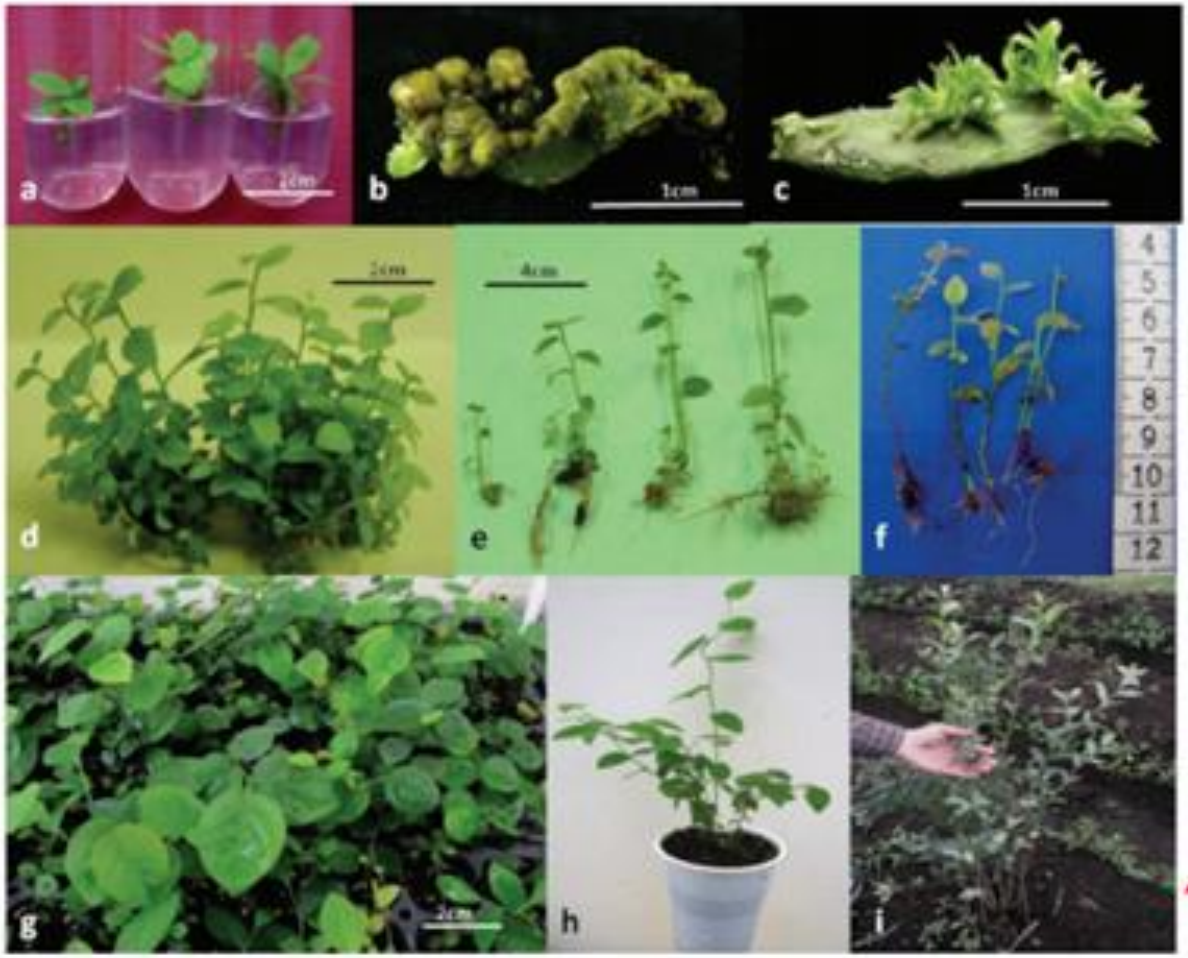
E) Explantos con problemas de vitrificación y presencia de callo.

F) Vástago enraizado para pasar a la etapa de aclimatización.



Micropropagación de arándano

Secciones uninodales



Planta con frutos de 1 año en el campo

Costos de la micropropagación

- Capital para la instalación del laboratorio
- Costo de la mano de obra
- Costo de los materiales
- Características del comportamiento in vitro del material:

Facilidad de establecimiento, rejuvenecimiento, etc.

Tasa de multiplicación

Enraizamiento in vitro/ex vitro

- Pérdidas que ocurren en cada etapa del proceso:

contaminación

hiperhidricidad

% plantas que no enraizan

% plantas que no sobreviven la aclimatación

Micropropagación vs propagación vegetativa convencional

- Es posible propagar algunas especies que no se propagan “in vivo”.
- Se necesita muy poco material de partida.
- El crecimiento es mayor por rejuvenecimiento y sanidad.
- Se requiere poca área para el cultivo del material.
- Se elimina el efecto estacional.
- Simultáneamente se “limpia” el material.

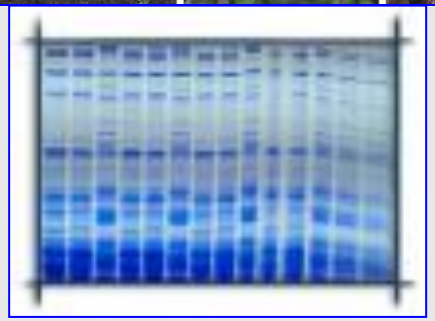
Otras aplicaciones …

Conservación del germoplasma.

- Colecta
- Cuarentena, índice de daño y erradicación de patógenos
- Propagación
- Caracterización, evaluación y monitoreo
- Almacenamiento
- Distribución









BANCO DE GERMOPLASMA



BANCO DE GERMOPLASMA

BANCO DE SEMILLAS

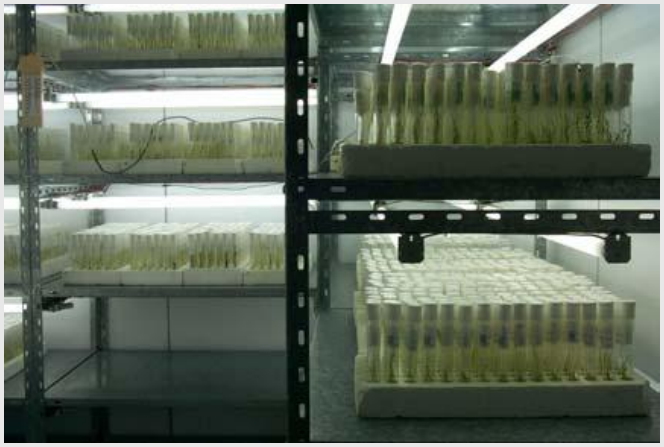


Las muestras colectadas deben ser secadas con anterioridad para su conservación para evitar el deterioro por hongos.



Los materiales son ordenados y registrados en cajas, lo cual permite llevar un banco de datos.

BANCO IN VITRO



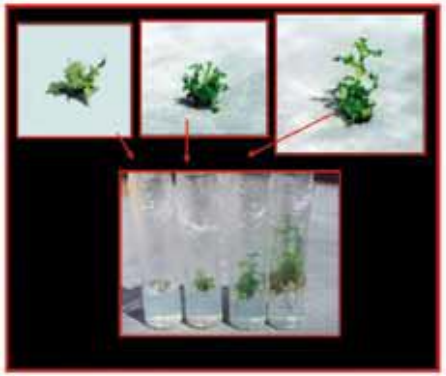
La conservación *in vitro* se utiliza para almacenar germoplasma de cultivos agrícolas, forestales o especies nativas amenazadas

bajo crecimiento

crioconservación

BANCOS DE GERMOPLASMA *in vitro*

Meristemas creciendo a tasas mínimas (4°C y medio de cultivo reducido) durante 12 meses.



Plantas provenientes de meristemas conservados a tasas mínimas (60 días de transferidas a sustrato).



Crioconservación de meristemas aplicando la técnica de encapsulación/desidratación.



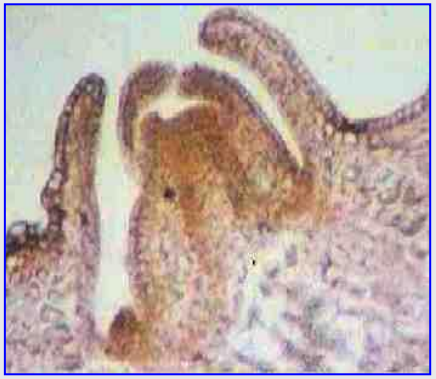
Plantas provenientes de meristemas crioconservados a –196°C.



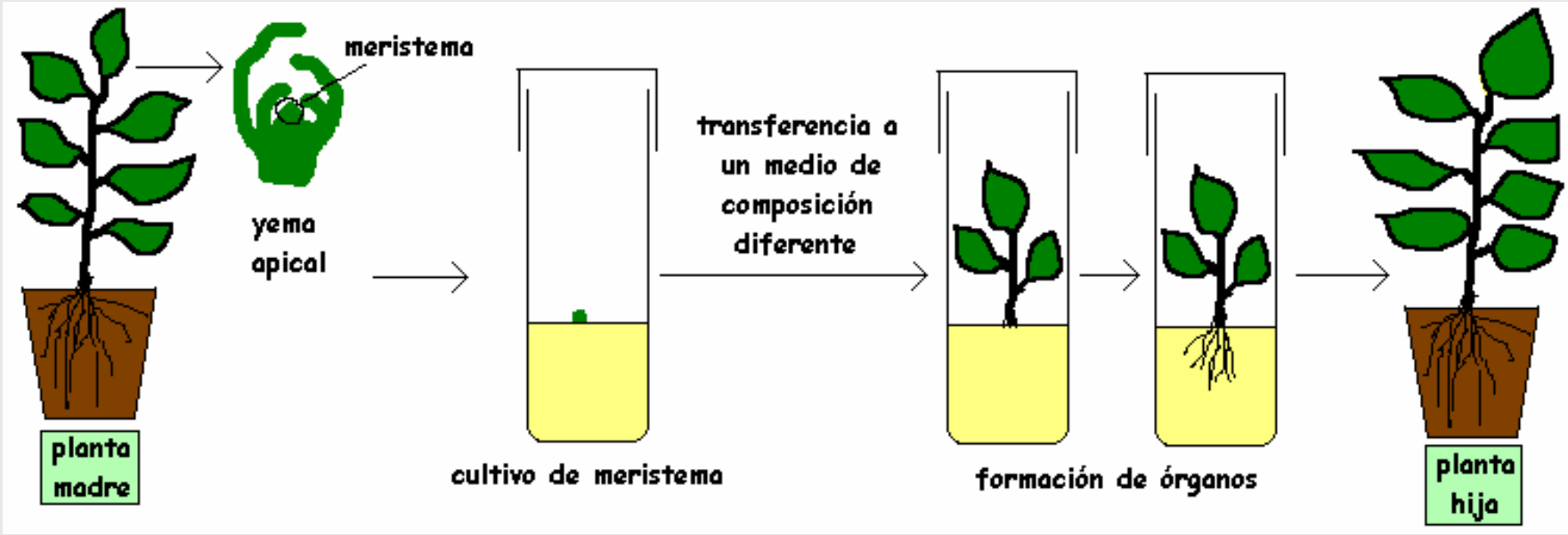
Sanidad Vegetal:

CULTIVO DE MERISTEMAS

Es el cultivo *in vitro* del domo apical (meristemo apical que como media mide 100x100 µm) más los primeros primordios foliares.



Ápice meristemático



Producción de metabolitos secundarios

- **Obtención de líneas sobreproductoras**

- **Cultivo de células**
  Taxol (anticancerígeno)

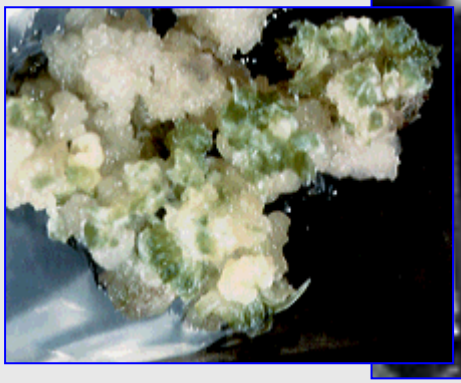
- **Cultivo de callos**

  Maca (glucosinolatos y alcaloides)

- **Cultivo de raíces**
  Ginseng (anticancerígeno)
  Remolacha (colorante)
  Salvia (antioxidante)



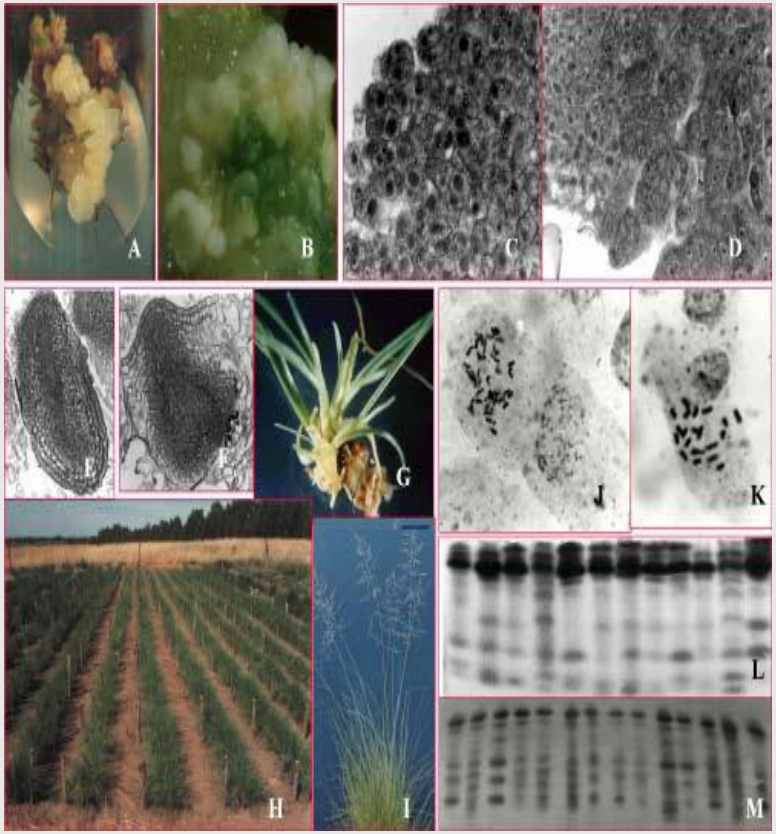






Variación somaclonal

Trabajar a partir de células o protoplastos permite una mayor eficiencia en la selección y disminuye la posibilidad de generaión de quimeras



Obtención de variantes somaclonales de pasto llorón, Eragrostis curvula a partir del cultivo de inflorescencias .

Resistencia a frío en paraíso gigante y a salinidad en eucalipto, mediante el cultivo de callo

Antes de los 8 meses de cultivo, no hay variaciones cromosómicas. A los 24 meses de cultivo in vitro, en general, la planta muere por la cantidad de cambios cromosómicos producidos ¡¡¡¡¡.

Mejora genética. OGM

En 1983 se informaron los primeros experimentos de expresión de un transgen (gen introducido por vía asexual) en células vegetales y al año siguiente se obtuvieron las primeras plantas transgénicas (**tabaco y petunia**).



Desde entonces se ha extendido la aplicación de esta tecnología a más de 120 especies.

Se consideran **organismos transgénicos** aquellos cuyo genoma ha sido alterado por ingeniería genética, las operaciones fundamentales de esta técnica consisten en cortar y unir porciones de ADN.

Mediante estas tecnologías se puede alterar un genoma por la adición de uno o varios genes.

Estas operaciones se hacen para **conferir caracteres deseables** y para **eliminar caracteres indeseables** del organismo, objetivos que no difieren de los de la mejora genética tradicional.

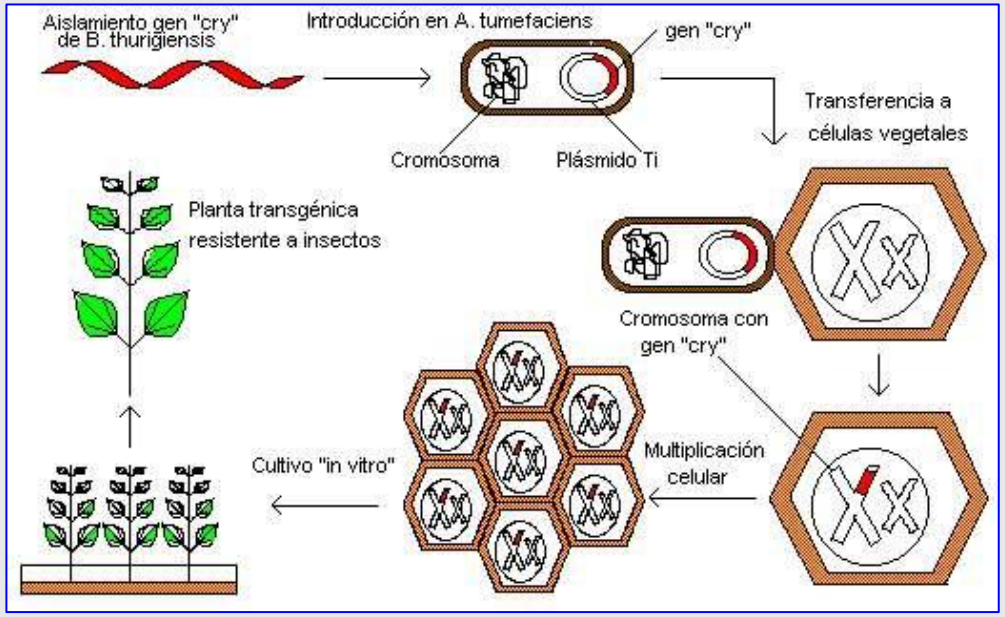


Aplicaciones del cultivo de tejido
Mejora genética. OGM

METODOS:

a) **indirectos:** transformación mediada por ***Agrobacterium tumefaciens*:** un vector biológico que participa de la transferencia (sólo para dicotiledóneas)

b) directos: por distintos mecanismos físicos se introduce el ADN en la célula: electroporación de protoplastos, polietilenglicol, biolística



PLANTAS TRANSGENICAS

Resistencia a herbicidas: se basa en la transferencia de genes de resistencia presentes en bacterias o vegetales como la **petunia.** Ejemplos: soja resistente a glifosato, colza resistente a glufosinato y algodón resistente a glifosato, glufosinato y bromoxinil**, tabaco**.

Resistencia a plagas y enfermedades: resistencias a virus en tabaco, patata, tomate, pimiento, calabacín, soja, papaya, alfalfa y albaricoquero, resistencia a insectos en **maíz Bt, algodón**, batata

Mejora de las propiedades nutritivas y organolépticas: en el tomate se ha logrado mejorar la textura y la consistencia impidiendo el proceso de maduración, al incorporar un gen que inhibe la formación de pectinasa, enzima que se activa en el curso del envejecimiento del fruto.



Transgénicos en Argentina,: soja
maíz
algodón

Cuáles son los riesgos de los alimentos GM?

Antes de su liberación al medio ambiente, los cultivos GM deben seguir normas de seguridad para evaluar:

- Riesgos en la salud humana (toxicidad y alergenicidad)
- Riesgos de la evolución de la resitencia en el patógeno target
- Riesgo en los organismos que no son targets
- Riesgo del movimiento de los transgenes

Embriones de soja bombardeados



Manipulación genética en el sector forestal

Se realiza en al menos **35 países**, y se limitan esencialmente a las especies *Populus, Pinus, Liquidambar y Eucalyptus.*

1er árbol transgénico:

Populus nigra

transformado con los genes de **resistencia a insectos** (taladro)**.**

La transformación genética de árboles es un instrumento nuevo

En Angiospermas mediante *Agrobacterium tumefasciens*



En Gimnospermas por bomardeo con micropartículas



Los éxitos son limitados debido a problemas asociados a **la regeneración de las plantas** (muchos árboles se consideran recalcitrantes al cultivo *in vitro)*

Aplicación de biotécnicas en especies forestales: transformación genética de árboles

Objetivos mas estudiados en ingeniería genética forestal:

- Aumento en la producción de biomasa (modificación de la expresión de genes que participan en la síntesis de hormonas como citocininas y giberelinas)

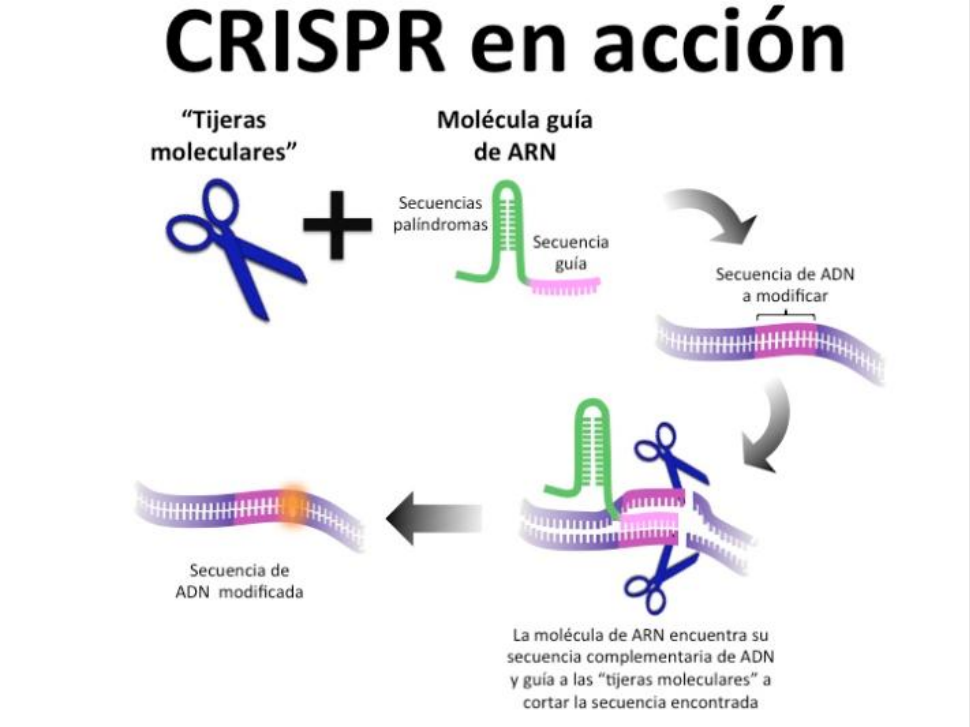
- Cambios en la estructura de la madera (modificación del contenido y composición de la lignina)

Otros objetivos …

- Resistencia a insectos y hongos en álamo
- Tolerancia a herbicidas: resistencia a glifosato en *Populus*, *Picea y Pinus*
- Capacidad de crecer en suelos marginales: árboles tolerantes a salinidad en *Eucalyptus camaldulensis*
- Para fitorremediar compuestos orgánicos en álamo, para fitorremediar Hg en *Liriodendron tulipifera*

Lo mas nuevo …

EDICIÓN GÉNICA:



• La tecnología CRISPR / Cas 9 Permite editar la información del ADN de cualquier especie incluida la humana.

• Es un mecanismo natural que tienen las bacterias para defenderse del ataque de los virus.

• Se trata de la producción, por parte de la bacteria, de segmentos de ADN que se acoplan a secuencias complementarias del ADN del virus invasor y con la ayuda de enzimas especiales, lo modifican de manera de inactivar el virus

Las técnicas de Edición Génica

Permiten realizar cambios específicos y precisos en los genes de las plantas, como silenciarlos, apagarlos, editarlos o insertarlos.

En el caso de varias de estas técnicas, las plantas resultantes son libres de genes provenientes de otros organismos, **diferenciándose de los transgénicos.**

Lo mismo en humanos …individuos de diseño????

Legislación???? Patentes????

Aspectos éticos y sociales????

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

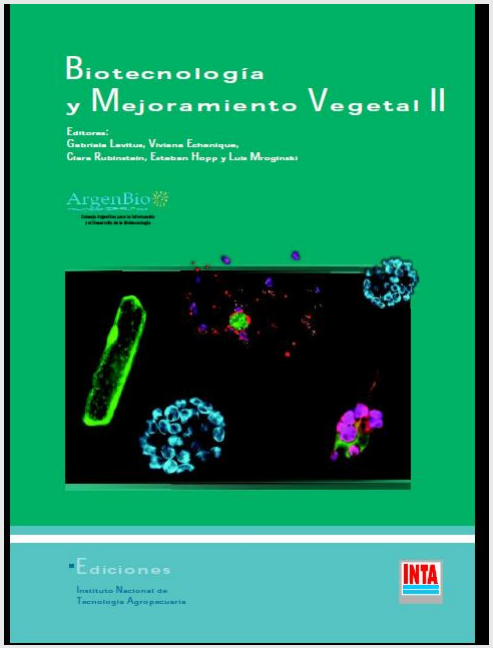


http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/46738/Documento_completo__.pdf-PDFA.pdf?sequence=1

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II

Editores:
Gabriela Levitus, Viviana Echenique,
Clara Rubinstein, Esteban Hopp
y Luis Mroginski



Ediciones INTA
http://intainforma.inta.gov.ar/wp-content/uploads/2010/09/bio_WEB.pdf