

SEBBM DIVULGACIÓN

LA CIENCIA AL ALCANCE DE LA MANO



Conocer los genes de defensa de las plantas para la mejora sostenible de la agricultura

DOI: http://dx.doi.org/10.18567/sebbmdiv_RPC.2017.12.1

José Luis Caballero

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Córdoba

Biografía

José Luis Caballero Repullo es Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Córdoba. Nació en Córdoba (1957), donde cursó estudios de Biología. Se doctoró en Ciencias en la Universidad de Extremadura, investigando la función de la Ribonucleósido difosfato reductasa de *Escherichia coli* en el complejo de replicación del DNA. Posteriormente, realizó una estancia postdoctoral de 4 años en el John Innes Institute (Norwich, UK), trabajando en la biosíntesis de antibióticos, en el Grupo de *Streptomyces* dirigido por el Prof. Sir David. A. Hopwood. En septiembre de 1990 se incorpora a la Universidad de Córdoba, donde posteriormente obtiene la Cátedra, y forma, junto a su colega Juan Muñoz Blanco, el grupo de investigación de biotecnología y biología molecular de la fresa. Su línea de investigación está centrada en los procesos moleculares y genes que están implicados en los mecanismos de defensa de la planta de fresa a patógenos y en la maduración del fruto.

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/la-ciencia-al-alcance-de-la-mano-articulos-de-divulgacion_29

Resumen

Las plantas se defienden de sus patógenos mediante un complejo sistema de mecanismos moleculares en el que intervienen muchos genes. Es importante conocer cuáles son los genes implicados en defensa y cómo funcionan, ya que este conocimiento nos va a permitir mejorar la resistencia en plantas de interés agroalimentario, mediante estrategias biotecnológicas que puedan evitar un uso excesivo de químicos y pesticidas, contaminantes del medio ambiente.

Summary

Plants make use of a wide range of genes and molecular strategies to defend themselves from pathogens. It is of great value to understand the function of defense genes in order to increase resistance in plants of agronomic interest. This knowledge will allow us to develop biotechnology-based strategies to improve resistance in important crops, thus reducing the use of chemical, pesticides and other environmental contaminants.

Las plantas necesitan defenderse de organismos que las depredan y perjudican. Para ello, disponen de un arsenal de moléculas y estructuras celulares con capacidad defensiva que, permiten detener la invasión de la mayoría de agentes patógenos. Muchas de estas defensas se encuentran ya presentes cuando sus tejidos y células son atacados. Otras son rápidamente fabricadas como consecuencia de señales de alerta, que se transmiten desde la superficie de las células atacadas a su "centro logístico de coordinación de tareas", el núcleo, donde se encuentran los cromosomas, y

conducen a la activación de genes específicos para la defensa, a la vez que provoca una reprogramación del metabolismo celular, optimizándolo para responder al desafío del invasor. Muchas plantas han evolucionado mediante **selección natural** [1], conservando unos genes que codifican proteínas capaces de reconocer a determinados patógenos de manera muy específica (**genes R** o de resistencia) [2]. Por ello son capaces de transmitir la señal de alarma y organizar el sistema de defensa en la planta con tal rapidez y eficacia que les permite detener el desarrollo del patógeno o, incluso, eliminarlo. Sin embargo, muchos patógenos también han sido capaces de evolucionar, evitando o anulando este reconocimiento específico por parte de la planta y su sistema de defensa, por lo que finalmente pueden invadirla. Desde su origen, la **agricultura** se ha centrado principalmente en obtener poblaciones de plantas (**variedades**) con características que fuesen beneficiosas, ya sea desde el punto de vista alimenticio, o de la salud, o el económico. El mantenimiento de estas características de interés en una **variedad** y en sucesivas generaciones de la misma, implica un proceso denominado **selección artificial**, en el que el hombre interfiere directamente. Esta selección artificial está basada en las características que las plantas manifiestan al medio que las rodea (**fenotipo**) y pueden, de algún modo, ser detectadas por el hombre (ej. la forma, el tamaño, el color o el sabor, etc. que la planta muestra como consecuencia de su composición génica o **genotipo**). La selección artificial procede a una velocidad mayor que la selección natural. Si bien la mejora de plantas se ha practicado desde hace miles de años, la selección artificial de los individuos de mayor interés ha provocado que el material genético de una planta cultivada

llegue a ser muy diferente al de sus antecesores (ej. la fresa). Esto ha permitido la obtención de variedades de plantas que, o bien no contienen genes R de resistencia apropiados, o contienen "fallos" en la respuesta de defensa frente a la infección de determinados patógenos. La fresa es una planta de enorme importancia a nivel mundial por las características culinarias del fruto y por sus propiedades saludables para el consumo humano, pues es rico en sales minerales, vitaminas A, B, C y D, polifenoles y otros compuestos antioxidantes. La fresa cultivada (*Fragaria x ananassa*) es una especie octoploide. Es decir, posee ocho juegos de cromosomas y es consecuencia de un cruzamiento artificial y posterior selección para tamaño y sabor, a partir de las especies *F. virginiana* (notable por su sabor) y *F. chiloensis* (notable por su tamaño) [3]. Ninguna de las variedades de fresa que se comercializan actualmente son realmente resistentes a muchos de los patógenos que las atacan, por lo que gran parte de las cosechas se pierde por ataque de los mismos que impide su comercialización. Conocer cuáles son los genes R y los genes que se activan/desactivan en respuesta a patógenos es muy importante para la fresa u otras variedades de plantas de interés agroalimentario, ya que este conocimiento puede permitir, mediante ingeniería genética, modificarla de manera muy específica y dirigida, para hacerla más resistente. Asimismo, es importante que esta modificación genética se realizara sobre un único gen o grupo de genes concreto, a diferencia de la mejora mediante un cruzamiento clásico tradicional, donde se desconocería qué genes o combinación de genes implicados en la resistencia se seleccionan. Además, el proceso de selección tradicional puede conducir a la pérdida de otros caracteres agronómicos de interés. Más aún, en el caso de fresa, la selección artificial para resistencia por cruzamiento clásico es inviable, ya que las variedades cultivadas son octoploides, y a ella podrían contribuir múltiples loci distribuidos en los

diferentes subgenomas. Actualmente existen tecnologías génicas, como por ej. el uso de **microarrays** o la secuenciación masiva de RNA (**RNAseq**) [4], que permiten conocer cuántos y qué genes de la planta podrían estar involucrados en organizar una respuesta de defensa eficiente frente a un patógeno particular. Una vez identificados dichos genes, tecnologías de **silenciamiento génico** [5] permiten ver el efecto que produce en la planta la inactivación total o parcial de dicho gen, previo a la infección del patógeno (¿será la planta más o menos resistente?). También se puede determinar el efecto que tiene que el gen esté siempre activo (**sobreexpresión génica**) antes de que el patógeno trate de infectar la planta (¿estará la planta mejor o peor preparada para defenderse cuando el patógeno llegue?). Se pueden realizar ambos estudios introduciendo el gen identificado en plásmidos artificiales derivados del **plásmido-Ti** procedente de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, capaz de transferir genes a plantas [6]. En general, esta técnica involucra el cultivo de células o tejidos de la planta en el laboratorio, dado que la transferencia de genes se realiza sólo a algunas células de la planta. A partir de estas células transformadas se regeneran plantas completas (**plantas transgénicas**), que llevan los genes transferidos de manera estable, los expresan y los transmiten a la descendencia para realizar los experimentos de susceptibilidad al patógeno. No obstante, el proceso descrito anteriormente es largo. Para poder conocer rápidamente la función de un gen, a menudo se utilizan técnicas de "transformación y **expresión temporal del gen**" en un tejido u órgano particular de la planta. En fresa, el fruto es un órgano ideal para este fin (Figura 1). Así, células de *A. tumefaciens* portando el plásmido con el gen de interés se pueden infiltrar en el tejido del fruto, mediante inyección, para transferir el gen a las células de fresa. Esta transferencia permite observar si las células del fruto que han recibido el gen (**transgen**) y lo

expresan manifiestan mayor o menor resistencia a una infección. Una vez conocida la función del gen, el paso siguiente es modificar genéticamente la planta, sobreexpresando o silenciando de forma estable el gen beneficioso para que pueda aportar definitivamente una mayor resistencia a un patógeno, u otro carácter de interés agronómico. Las plantas transgénicas así obtenidas se pueden incluir luego en planes de mejora tradicional a través de reproducción sexual para transferir los genes de interés a variedades de alto rendimiento.

Referencias

[1] Selección natural: <http://www.actionbioscience.org/esp/evolucion/futuyrna.html>, <http://www.actionbioscience.org/evolucion/futuyrna.html#learnmore>
 [2] Genes R y Mecanismos de defensa contra patógenos en plantas: <https://vimeo.com/89379054>, http://www.biouls.cl/librofv/web/pdf_word/Capitulo%2013.pdf
 [3] Fresa: <http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/pubinv/RMV/181QUERCUS.pdf>
http://www.juntadeandalucia.es/export/drupalid/a/1337161077LIBRO_FRESA_HUELVA.pdf
 [4] Microarrays: <https://www.youtube.com/watch?v=0ATUjAxNf6U>, <http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/microarray/>
 [5] Silenciamiento génico: <http://porquebiotecnologia.com.ar/index.php?action=cuaderno&opt=5&tipo=1¬e=115>, <http://www.nature.com/nrg/multimedia/rnai/animation/index.html>, <https://www.youtube.com/watch?v=Kl8bOEPGwNc>
 [6] *Agrobacterium*, Ti y Plantas Transgénicas: https://www.youtube.com/watch?annotation_id=annotation_2723528745&feature=iv&src_vid=hcdNsjX4yF4&v=8iaTBEZK1e4, <https://www.youtube.com/watch?v=K1ZyvsHhOE>

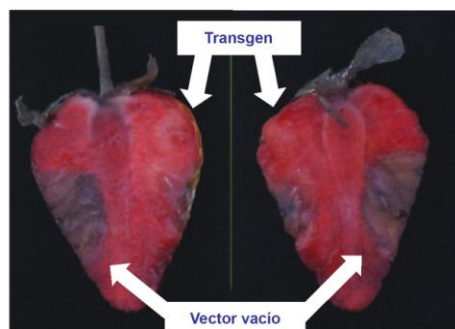
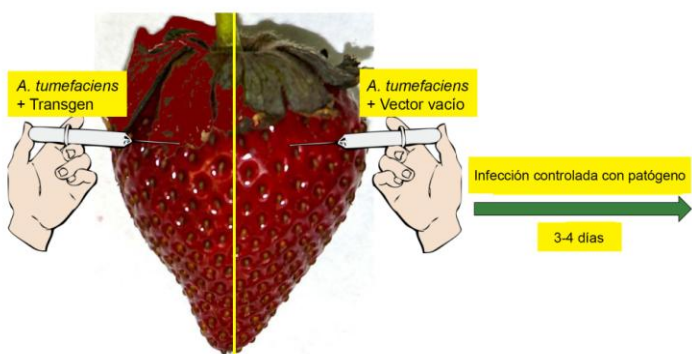


Figura. Bacteria *A. tumefaciens* portando el plásmido vacío (control) o con el gen de interés (transgen), se inyecta manualmente en cada mitad del fruto. Luego, en cada mitad del fruto se inocula el patógeno de fresa. Si el transgen está involucrado en la activación de la defensa, el crecimiento del patógeno y el daño que este produce en el fruto se verá disminuido en la cara del fruto en la que se ha infiltrado.