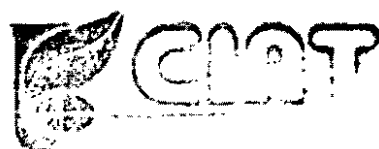




Conceptos Básicos y Glosarios de:

- ADN, Genes y Genomas
- Bio-informática
- Transformación Genética
- Bioseguridad
- Propagación *in vitro* de Yuca



UNIDAD DE INFORMACION Y
DOCUMENTACION

09 ENF. 2007

Unidad de Biotecnología
Centro Internacional de Agricultura Tropical



ADN – GENES y GENOMAS

Introducción

Uno de los más importantes aportes al estudio de la biología ha sido la descripción del ADN (ácido desoxirribonucleico) "la molécula de la vida". El estudio de sus propiedades fisicoquímicas y biológicas ha desarrollado en menos de cincuenta años un enfoque completamente novedoso en lo referente al origen, flujo y almacenamiento de la información genética en los organismos vivos (dogma central de la biología molecular); además, ha hecho posible la utilización de este conocimiento en la solución de problemas concretos a través de la ingeniería genética o tecnología del ADN recombinante.

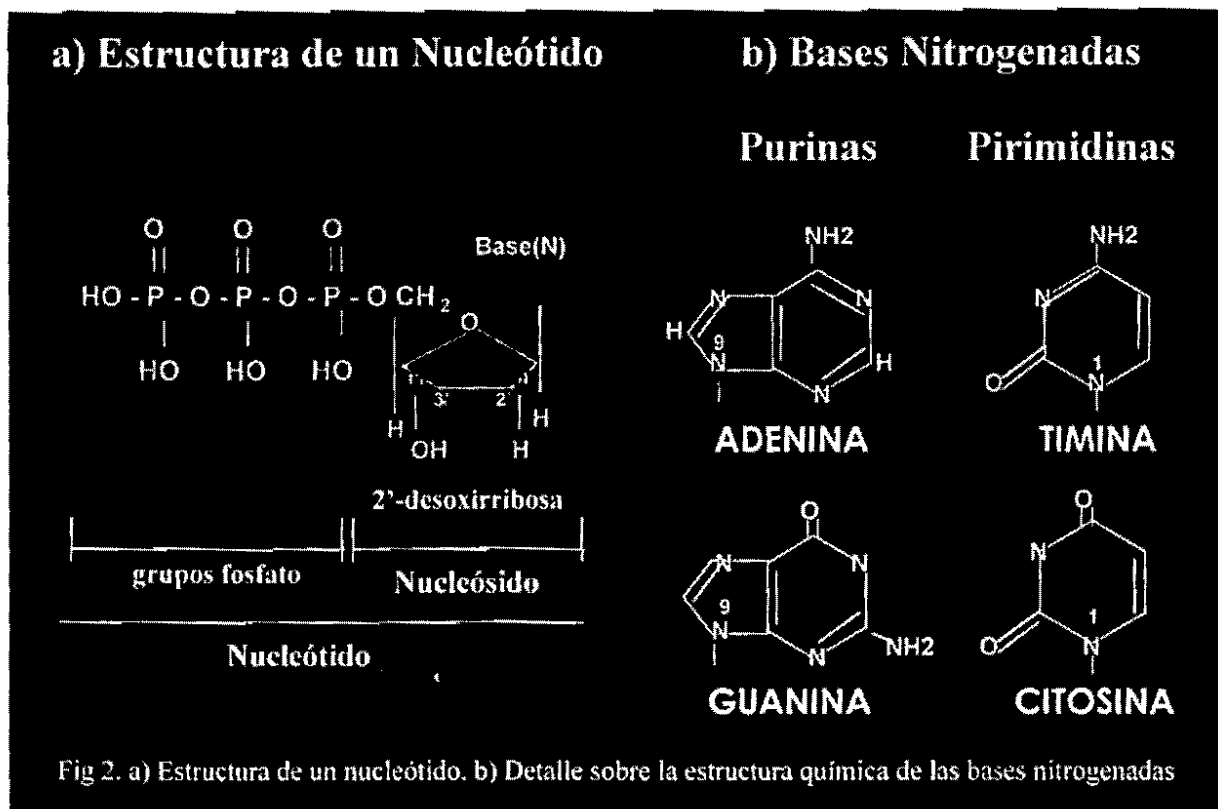
Definición

El ADN es una estructura termodinámicamente estable aunque informacionalmente dinámica y sujeta al cambio. El efecto de su expresión es de enorme complejidad y plasticidad, estos dos hechos definen la originalidad de un organismo a la vez que lo hacen ligeramente distinto de otros individuos de su misma especie y completamente diferente de organismos de otros grupos o taxones que al igual que él comparten el hecho de poseer moléculas de ADN.

El ADN como macromolécula, es un polímero de carácter ácido, con características fisicoquímicas propias responsable de la generación, transmisión y almacenamiento de la información hereditaria en todo organismo vivo. Todas las células poseen en su núcleo ADN, incluyendo organelas tales como cloroplastos y mitocondrias en plantas. El ADN se encuentra asociado a proteínas estableciendo complejos especiales que conforman diversos niveles de organización dentro de los cuales los cromosomas son los más representativos.

El ADN se encuentra en el núcleo de las células asociado con proteínas y organizado en cromosomas como se mencionó antes. Una molécula de ADN consiste en dos cadenas unidas por puentes de hidrógeno formando una doble hélice (fig. 1). Cada cadena es una secuencia repetitiva de unidades similares llamadas nucleótidos, cada uno compuesto de un azúcar, un grupo fosfato y una base nitrogenada (fig.2). Cuatro bases diferentes están presentes en el ADN: adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G). El orden específico de las bases a lo largo de la cadena se conoce con el nombre de secuencia del ADN. La secuencia específica las instrucciones genéticas exactas requeridas para crear un individuo con características únicas. La información genética puede entonces ser definida como frases escritas usando las bases A, C, T y G como alfabeto. La secuencia de las bases a lo largo de una cadena es exactamente complementaria a la otra, lo cual indica que ambas cadenas poseen la misma información genética. Las dos cadenas de ADN están unidas químicamente por puentes de hidrógeno formando pares de bases. A siempre estará unida a T por dos

puentes de hidrógeno mientras que G estará unida con C por tres puentes de hidrógeno. El tamaño del genoma corresponde al número total de pares de bases.



El Gen

El gen es la unidad básica de la herencia. Posee la información básica para la síntesis de proteínas, las cuales son los compuestos estructurales de las células y los tejidos.

En términos bioquímicos, un gen consiste de una cadena de ácido desoxirribonucleico (ADN) la cual forma parte de una unidad genética mucho más larga conocida como cromosoma (gig3). Organismos unicelulares como las bacterias, poseen pocos miles de genes mientras que organismos complejos como las plantas superiores poseen hasta 50.000 genes diferentes.

El estudio de como los genes guardan la información genética y como es transmitida ésta información ha sido una labor titánica durante mucho tiempo, pero solamente en la última década se ha podido dilucidar la complejidad de estructuras y mecanismos que contribuyen hoy a entender qué es el gen. La información genética completa de un organismo compuesta por muchos genes se conoce con el nombre de genoma. El genoma contiene la información para la construcción de todas las estructuras celulares y las actividades a lo largo de la vida de una célula u organismo.

Solo a mediados de los años setenta con el desarrollo de la tecnología del ADN recombinante y posteriormente con los métodos de secuenciación de ADN, se pudo estudiar la organización molecular del gen al nivel de la base nucleotídica. En los vegetales se ha estimado que existen entre 10.000 y 100.000 genes según la complejidad de la planta. Los genes varían ampliamente en longitud, teniendo la mayoría de ellos varios miles de bases. Sin embargo, solo aproximadamente el 10% del genoma contiene secuencias codificantes para la síntesis de proteínas. Estas secuencias llamadas exones contienen el código genético que es leído y es finalmente traducido en proteínas. Entre los exones, se encuentran secuencias que no tienen funciones codificantes (intrones). Algunas de éstas secuencias son secuencias reguladoras, necesarias para llevar a cabo la expresión de la información genética. Las secuencias de ADN pueden estar presentes en diferentes cantidades, variando entre una a millones de copias por célula o genoma haploide. Estas secuencias repetidas se pueden encontrar seguidas en el cromosoma o pueden estar dispersas a lo largo del genoma. Normalmente, estas secuencias se encuentran agrupadas o en los centrómeros o en los telómeros de los cromosomas.

Todos los organismos vivos están compuestos de proteínas, las cuales son moléculas grandes y complejas, compuestas por cadenas de subunidades llamadas aminoácidos. Veinte aminoácidos diferentes son usualmente los que componen las proteínas. En el gen, cada secuencia de 3 bases se conoce con el nombre de codón, en el cual se encuentra el código para la síntesis y ensamblaje de cada aminoácido. Por ejemplo, la secuencia ATG codifica para el aminoácido metionina. Debido a que 3 bases codifican para un aminoácido, la proteína codificada por un gen de 3000 pb, estará compuesta de 1000 aminoácidos.

El código genético es una serie de codones en los cuales está especificado cuales aminoácidos son necesarios para sintetizar proteínas determinadas. Las instrucciones que están en los genes para llevar a cabo la síntesis de proteínas, son transmitidas indirectamente a través de una molécula llamada ARNm (ARN mensajero), la cual es similar a una de las dos cadenas del ADN. Para que la información que se encuentra en el gen sea expresada, una molécula de ARN complementaria es producida a partir

del ADN molde mediante un proceso llamado transcripción. Este ARNm se transporta desde el núcleo al citoplasma donde sirve como molde para la síntesis de proteínas. La maquinaria celular traduce los codones en cadenas de aminoácidos que formarán finalmente la molécula de proteína. En el laboratorio, es posible aislar la molécula de ARNm y usada como molde para sintetizar una cadena de ADN complementario (ADNc), la cual puede ser posteriormente usada con el fin de localizar genes de interés y ser ubicados en un mapa genético.

Genoma

Los estudios sobre organización del genoma son importantes para el entendimiento de la función y evolución del mismo y para dar información que permita diseñar estrategias para su manipulación.

Las características de un organismo están especificadas en su información genética la cual esta representada como una secuencia de ácido nucléico. La suma total de esta secuencia es lo que conforma su genoma. En general el tamaño del genoma es proporcional a la complejidad fenotípica del organismo y esto va de acuerdo a el número de productos génicos necesarios para la replicación y mantenimiento funcional de nuevos individuos.

La información genética almacenada en los cromosomas (**Figura 1**), es multiplicada en dos pasos secuenciales: **Transcripción** en donde una porción lineal del gene es copiado dentro de una molécula de RNA de cadena única y **Traducción** : en los ribosomas el RNA mensajero es traducido dentro de aminoácidos unidos covalentemente (cadena polipeptídica). Una vez liberados del ribosoma, la cadena polipeptídica puede estar sujeta a modificaciones post-traduccionales.

El flujo de información genética de DNA a RNA esta altamente regulado en todas las células y coordinado. Tal control en la expresión genética es necesario para evitar que haya un gasto innecesario de energía sintetizando un producto que no sea necesitado por la célula. Así, la expresión de genes puede estar restringida a algún tiempo durante el desarrollo de un organismo, en la expresión en ciertos tipos de células, o en respuesta a estímulos externos, o requerido por todas las células en todos los estadios.

Organización de Genomas de Organelas

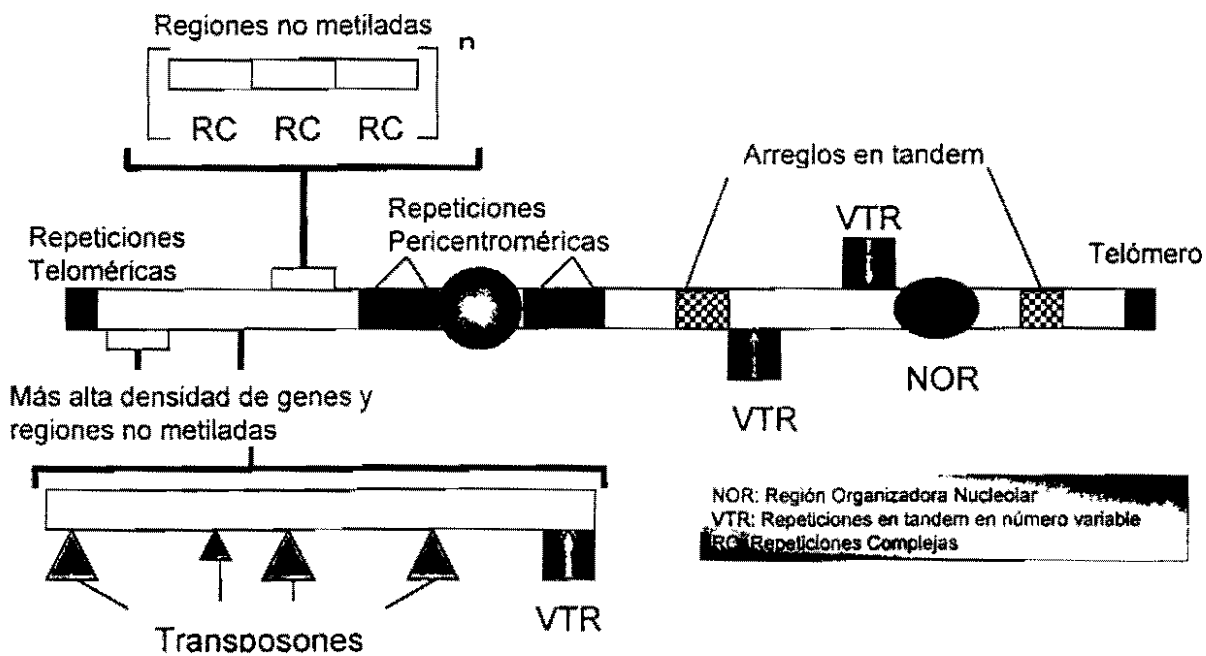
Las mitocrondrias y cloroplastos poseen genomas de ADN que codifican para todos las especies de ARN y algunas de las proteínas involucradas en las funciones de la organela. En eucariotes primitivos el ADN mitocondrial es lineal pero usualmente los genomas de las organelas tienen la forma de una molécula de ADN circular. Debido a que cada organela contiene varias copias del genoma y a que existen muchas organelas por célula, el ADN de organelas constituye una secuencia repetitiva.

Genoma de Cloroplasto: Se han realizado varios estudios con el fin de elucidar el tamaño y la organización general de muchas moléculas de ADN de cloroplasto utilizado

mapeo por enzimas de restricción. La forma general del ADN ct de eucariotes primitivos y superiores es una secuencia de 10-24Kb que esta presente en dos copias idénticas como una unidad invertida.

Genoma de Mitochondria: El genoma de mitocondria varía enormemente en tamaño y esto hace imposible generalizar sobre su organización. El ADN de mitocondria de 3 especies (humano, ratón y vaca) han sido secuenciados y la organización del genoma es similar.

Fig 1. Representación esquemática de la organización de un cromosoma vegetal (Flavell, 1996)



ADN FINGERPRINTING

Los marcadores moleculares basados en la variación de las secuencias del ADN (minisatélites, microsátélites y otros) han dado una herramienta para distinguir entre genotipos estrechamente relacionados.

En 1985, Jeffreys y colaboradores desarrollaron el primer fingerprint multilocus de ADN y especularon que estos patrones de ADN podían ser un poderoso método para identificación individual y prueba de paternidad. En abril de 1985 el primer caso de disputa de migración fue satisfactoriamente resuelto por esta metodología.

Este análisis de ADN se puede hacer a partir de muestras de sangre, semen, fluido vaginal, cabellos rotos, células bucales.

Los resultados o patrones moleculares obtenidos con estas técnicas son heredables y únicos para cada individuo, algo similar a las huellas digitales, de ahí que hoy en día son muy utilizados para resolver casos de paternidad disputada, casos de violación y medicina forense. En el caso de plantas es de gran utilidad en la certificación de variedades y semillas, escoger parentales en programas de mejoramiento, estructura genética de poblaciones, estudios de diversidad y variabilidad genética, etc.

El ADN fingerprinting da fenotipos de ADN, no genotipos, en la cual la información sobre los loci y alelos no está disponible. En contraste, minisatélites ya clonados producen patrones de hibridización de ADN específica de locus de la cual la información genotípica puede ser deducida lo que es de crítica importancia para análisis de ligamientos. Cientos de minisatélites clonados han sido aislados ya sea por rastreo de librerías genómicas con clones los cuales detectan locis hipervariables o por hibridización de las librerías con oligonucleótidos basados sobre secuencias de minisatélites ya conocidas o por clonación selectiva de fragmentos de ADN en bacteriófagos vectores. Muchos de estos minisatélites clonados han sido localizados en el genoma humano. Ellos se han encontrado sobre cada cromosoma, incluyendo el X y la región de XY. Los minisatélites no se encuentran distribuidos a lo largo del genoma sino preferentemente localizados cerca a los extremos de los cromosomas humanos. (Tomado de Jeffreys and Pena, 1993)

Además de utilizar los minisatélites para tipificación de DNA, los microsátélites también pueden ser aplicados al ADN fingerprinting. El ADN fingerprinting con oligonucleótidos complementarios a las secuencias cortas tienen varias ventajas: son más rápidas ya que los pasos de prehibridización pueden ser omitidas. Oligonucleótidos sondas como (CAC)₅ y (GATA)₄ son ahora utilizadas como sondas multilocus, revelando regiones hipervariables en muchos organismos eucariotes como animales y vegetales (Epplen, et. al., 1991).

BIOINFORMÁTICA

Introducción

El desarrollo de las técnicas en Biología Molecular ha permitido generar de una manera mucho más eficaz y rápida una gran cantidad de información. Un ejemplo claro lo constituye la secuenciación de ADN (secuenciación del genoma humano). En los años 70s mediante la secuenciación manual, se estimaba que se lograba obtener información a razón de 1500 pb/año/persona. Actualmente con la completa automatización de obtención y análisis de datos de secuencia se estima que se logran secuenciar 1'000,000 pb/año/persona. Estos avances producen una elevada cantidad de información, la cual plantea a su vez la necesidad de generar sistemas altamente eficientes para su almacenamiento y manejo

Dentro de este contexto surge un nuevo concepto en Biología Molecular que ha tomado un gran auge y desarrollo recientemente, y que une a la Biología Molecular con la Biología Computacional. Es en este momento cuando comenzamos a referirnos a una nueva disciplina conocida como Bioinformática.

El objetivo fundamental de la Bioinformática es desarrollar estrategias computacionales para:

- el almacenamiento y depuramiento de la información y
- analizar y examinar datos generados.

La Bioinformática permite, además, en cierta medida resolver preguntas de tipo biológico, relacionadas con la asignación de posibles funciones a regiones codificadoras no caracterizadas. De igual manera, permite entender las interacciones entre los genes y sus productos en las células, y todo esto a la luz de la evolución de las familias de genes dentro y entre especies.

Con las herramientas que ofrece la Bioinformática, una vez generada una secuencia se puede establecer con que otras secuencias previamente reportadas en una base de datos presenta similitud. También es posible tener acceso a dichas secuencias y con ellas es posible generar un alineamiento que permitirá posteriormente establecer relaciones evolutivas o encontrar regiones conservadas. Todas estas aplicaciones se muestran en el diagrama de flujo y serán desarrolladas en el texto y a manera de ejercicio.

Bases de datos

El GenBank

Para cumplir con el primer objetivo (almacenamiento y depuración de la información), la Bioinformática ha recurrido al diseño y desarrollo de bases de datos muy potentes y altamente eficaces.

El comienzo de las bases de datos computacionales se inició en 1982 con los trabajos de la EMBL (European Molecular Biology Laboratory) la cual posteriormente se unió al GenBank. En ese momento ambos centros contribuían mutuamente en la actividad de ingresar la información, lo cual consistía principalmente en la transcripción de las secuencias publicadas en los artículos a un formato apropiado para ser usado en computador. La base de datos que se creó en Japón (DDBJ DNA Data Base of Japan) se unió poco años después. En 1988 se reunieron estos tres grupos (EMBL, GenBank y DDBJ) y unificaron criterios y formatos.

Así, el GenBank es la base de datos de secuencias genéticas que han sido reportadas y son de dominio público. Estas secuencias son aportadas principalmente por los proyectos de secuenciación a gran escala o por remisión directa de laboratorios individuales.

Existen aproximadamente 2,570,000,000 bases en 3,525,000 reportes de secuencias hasta abril de 1999.

La base de datos del GenBank es parte de la International Nucleotide Sequence Database Collaboration, la cual comprende las bases de datos de ADN de Japón (DDBJ), y de Europa EMBL), y del GenBank propiamente dicho del NCBI (National Center for Biotechnology Information). Estas tres organizaciones intercambian información diariamente.

Los datos del GenBank pueden ser adquiridos a través del sistema integrado de recuperación del NCBI, Entrez.

La información generada a través de estos grandes proyectos si bien se ha centrado principalmente en la secuenciación de genomas completos, también ha generado una copiosa información sobre estructura y ubicación de genes y/o secuencias ya identificadas. Esta información ha sido también almacenada en otro tipo de bases de datos.

Entrez

Desde un principio se planteó la necesidad de poder obtener información de varias bases de datos de una manera simultánea. De no existir estrategias computacionales que permitiesen establecer una relación coordinada entre estas bases de datos, sería necesario visitar cada una de ellas por separado. La respuesta a esta necesidad se

encontró con la generación de un sistema conocido como Entrez, el cual fue desarrollado y es mantenido por el NCBI.

Algunas aplicaciones usando las bases de datos:

Alineamiento de secuencias y búsqueda en bases de datos

Una de las principales metas de los investigadores es poder establecer el tipo de relación que existe entre dos secuencias. Este tipo de relación puede cubrir dos conceptos: la similitud que es una medida observable y puede ser expresada, como por ejemplo, porcentaje de identidad. Homología, mientras tanto, implica una relación funcional o evolutiva.

A pesar de que las búsquedas en bases de datos revelan únicamente similitud, es posible que a partir de esta similitud se pueda inferir homología (relación evolutiva) y de allí se podrían establecer algunos principios sobre la función.

Búsqueda de similitud en bases de datos

Una vez se ha generado una secuencia de nucleótidos, en algunos casos se desea saber si corresponde a algún gen, o en otros interesa asegurarse de si lo que se ha obtenido corresponde a aquello que se esperaba. La búsqueda de similitud en la base de datos permite determinar con que tipo de secuencias esta potencialmente relacionada una secuencia recién generada.

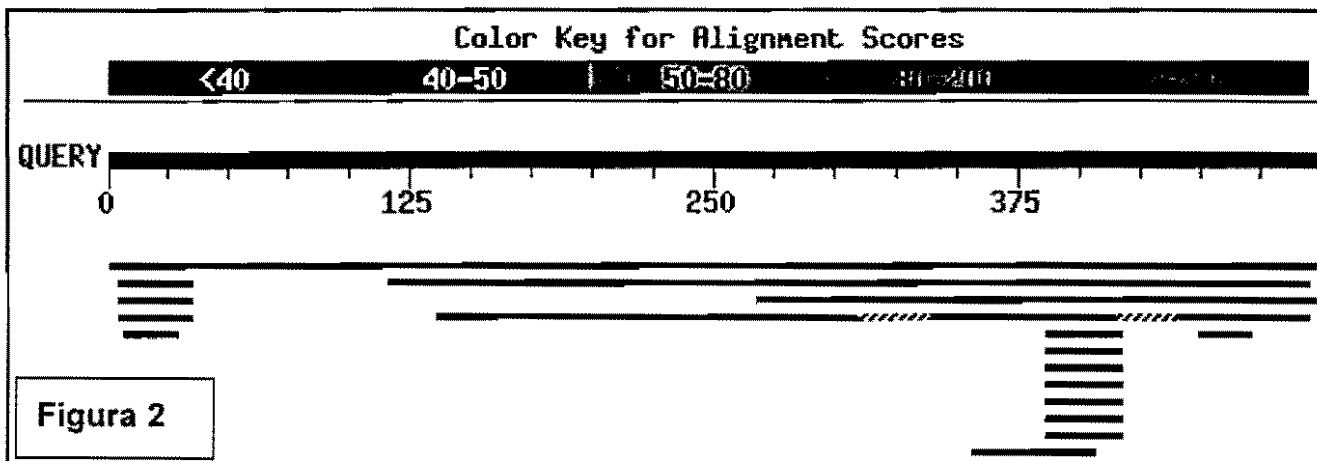
Al hacer una búsqueda en la base de datos, la operación básica que se realiza es un alineamiento progresivo de la secuencia recién generada (conocida como query) con cada una de las secuencias presentes en la base de datos. Los resultados son reportados como un listado de "hits" seguido por una serie de alineamientos individuales más varios "scores" y estadísticas. Dada la gran cantidad de información almacenada en la base de datos se debe tener en cuenta los algoritmos computacionales bien diseñados que permiten desarrollar este tipo de búsquedas a una alta velocidad y de una manera confiable.

Ejemplo de un algoritmo para usar con las bases de datos: BLAST

Para desarrollar los alineamientos se han generado diferentes algoritmos matemáticos, los cuales pueden ser clasificados, basados en el método que emplean, en dos grandes grupos: el de **programación dinámica** y el **heurístico**. Dentro de los primeros se encuentran los algoritmos de Needleman-Wunsch y de Smith-Waterman. Estos algoritmos trabajan muy lentamente y por esta razón se han diseñado los algoritmos heurísticos que quizás no son tan finos como los primeros pero que dan resultados muy rápidamente y de buena confiabilidad. Los programas BLAST y FASTA trabajan basados en algoritmos de este tipo.

El tipo de reporte o salida de computador que aparece después de la búsqueda empleando el programa BLAST es como muestra la **Figura 2**.

Primero aparece el esquema gráfico: Cada color da una información determinada.



Los resultados de las búsquedas son acompañados de estadísticos .

```
gb|J04103|MUSETS2 Mouse erythroblastosis virus oncogene homolog... 989 0.0
gb|J04102|HUMETS2A Human erythroblastosis virus oncogene homolo... 301 6e-80
gb|AF057716|AF057716 Ovis aries transcription factor Ets-2 mRNA... 204 1e-50
```

Después aparecen los alineamientos.

```
Query: 1 cgtcagtccccgccacctccccggccccgcgcgcccgatcggccctacggcctcgtctc 60
```

```
|||||
```

```
Sbjct: 1 cgtcagtccccgccacctccccggccccgcgcgcccgatcggccctacggcctcgtctc 60
```

```
Query: 61 gcccggccttgcgcgccgggaccgcccgcgatctctctccccgcccctccggctggcc 120
```

```
|||||
```

```
Sbjct: 61 gcccggccttgcgcgccgggaccgcccgcgatctctctccccgcccctccggctggcc 120
```

Finalmente, de acuerdo a lo anterior se dan los resultados de la búsqueda, permitiendo establecer la relación de similitud de la secuencia problema con porciones de secuencias de organismos depositadas en las bases de datos.

ALGUNOS SITIOS WEB DE INTERÉS

	DEFINICIÓN	SITIO WEB	OBSERVACIONES
EMBL	European Molecular Biology Laboratory	http://www.ebi.ac.uk/	Homepage.
GenBank	(National center for Biotechnology Information)	http://ncbi.nlm.nih.gov	
Entrez		http://ncbi.nlm.nih.gov/Entrez/	Permite obtener información de la base de datos del GenBank, de publicaciones, etc.
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool	http://ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/	Búsqueda de similitud
ClustalW	Programa de alineamiento	http://www2.ebi.ac.uk/clustalw/	Permite realizar alineamiento múltiple de secuencias de ADN y de aminoácidos
ClustalX		ftp://ftp-igbmc.ustrasbg.fr/pub/ClustalX/	Interfase gráfica de ClustalW

GLOSARIO DE ALGUNOS TÉRMINOS USADOS EN BIOLOGÍA MOLECULAR

ADN de copia única	Secuencia de ADN la cual esta presente una vez por genoma haploide
ADN repetitivo	Secuencias de ADN las cuales están representadas por más de una copia por genoma haploide. también llamado ADN de copia múltiple
ADN polimerasa	Enzima la cual cataliza la replicación de ADN usando como molde ADN de cadena única
Alelo	Forma alternativa de un gen para un locus en particular
CDNA	"ADN copia" producido por transcripción reversa de ARN mensajero (mRNA) por una transcriptasa reversa
Cebador	ver Oligonucleótido
Clonación	Se refiere al aislamiento de una línea celular en particular conteniendo un fragmento de ADN deseado
Desoxirribonucleasa	Enzima que degrada ADN Distancia: medida matemática de diferencia entre 2 unidades taxonómicas
Electroforésis	Separación de moléculas en un campo eléctrico
Endonucleasa de restricción	Enzima la cual corta ADN. Más comúnmente conocida como enzima de restricción tipo II, la cual corta el ADN en un sitio específico (secuencia de 4-8 nucleótidos)
Fenotipo	Propiedades observados de un caracter o grupo el cual son los productos de su base genética modificados por el medio ambiente y otros factores epigenéticos (ver genotipo, plasticidad fenotípica)
Genoma	Dotación de información genética propia de cada especie
Genotipo	Código genético el cual determinada propiedades de un caracter o grupo (ver fenotipo)
Huellas digitales de ADN	Complejo de bandas electroforéticas producidas por numerosos "loci" polimórficos sobre un gel en particular, como resultado del análisis de restricción con sondas de ADN repetitivas

Librería de ADN	Una colección representativa de fragmentos de ADN genómicos clonados (ver librería genómica)
Librería de cDNA	Una colección representativa de fragmentos de ARN mensajeros clonados
mtADN	ADN mitocondrial
Oligonucleotido	Fragmento corto de ADN de cadena única (usualmente de 10-30 bases) frecuentemente usado como cebador para secuenciación de ADN o PCR
Pb	Par de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa, un poderoso método usado para amplificación <i>in vitro</i> de ADN a partir de ciclos repetidos de cebadores dirigidos para la síntesis de una secuencia blanco usando una ADN polimerasa estable al calor
Plásmido	Un elemento extracromosomal dentro de la célula bacteriana el cual es usualmente capaz de replicarse en forma autónoma. Puede ser usado como vector para clonación de fragmentos de ADN heterólogos.
rDNA	ADN ribosomal el cual contiene los genes codificantes para ARN ribosomal maduro (17S, 5.8S, y 5S y 25S)
RFLP	Polimorfismo en las longitudes de los fragmentos de restricción
Sonda	Fragmento de ADN (o ARN) marcado radioactivamente o no; usado en hibridización de ADN
Taq polimerasa	ADN polimerasa termoestable proveniente de la bacteria acuática <i>Thermus aquaticus</i>

GLOSARIO SOBRE BIOSEGURIDAD y ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE

ACCIDENTE. Cualquier incidente que suponga una liberación de organismos modificados genéticamente durante su utilización contenida o confinada y que presente o pueda presentar un peligro inmediato o diferido para la salud humana o para el medio ambiente.

CONFINADO. Este término es usado para describir métodos seguros de mantenimiento y control de organismos transgénicos, para este caso cultivo en invernadero. Consiste en minimizar un posible impacto ambiental por el manejo de plantas transgénicas a nivel de este tipo de instalaciones.

CONTENIDO. Este término es usado para describir métodos seguros de mantenimiento y control de organismos transgénicos en almacenamiento, transporte y laboratorio. Su propósito es minimizar exposiciones innecesarias del hombre o del medio ambiente a organismos que representan un riesgo potencial.

DIVERSIDAD BIOLÓGICA. Se entiende la variabilidad de organismos vivos de cualquier fuente, incluidos entre otros, los ecosistemas terrestres y marinos y otros ecosistemas acuáticos y los complejos ecológicos de los que forman parte; comprende la diversidad dentro de cada especie, entre las especies y de los ecosistemas.

ECOSISTEMA. Se entiende un conjunto dinámico de comunidades vegetales, animales y de microorganismos en su medio no viviente que interactúan como una unidad funcional.

EVALUACIÓN DEL RIESGO. Metodologías para calcular qué daños podrían causarse, con qué probabilidad se presentarían y la escala para estimar su magnitud.

GEN. Unidad básica hereditaria, que se localiza en los cromosomas de las células y se duplica durante cada división celular; permite la transmisión de los caracteres hereditarios del organismo progenitor a sus descendientes.

GERMOPLASMA. Generalmente se refiere a una muestra de individuos de una población (que puede incluir una o varias especies) y que representan una porción

significativa de la variabilidad genética de dicha(s) especies. La variabilidad genética está representada en el material hereditario que contiene dicha muestra y generalmente está almacenada viva (colecciones de microorganismos, células, plantas, semillas, animales vivos, entre otros), crio-conservada (congelada) o como muestras de ADN.

INGENIERÍA GENÉTICA. Técnicas de recombinación de ADN o ARN.

LIBERACIÓN EN EL MEDIO AMBIENTE. El uso de un producto manipulado fuera de los límites de un confinamiento físico normal de un recinto cerrado, laboratorio, invernadero, fermentador o cualquiera otra estructura cerrada bajo las condiciones de bioseguridad establecidas.

MANEJO DEL RIESGO. Medidas tendientes a prevenir la ocurrencia del riesgo y a mitigar los efectos de éste, si llegare a presentarse.

MATERIAL GENÉTICO. Se entiende todo material de origen vegetal, animal, microbiano o de otro tipo que contenga unidades funcionales de la herencia.

ORGANISMO DONANTE. Un organismo del cual el material genético es extraído para ser insertado dentro, o en combinación con otro organismo.

ORGANISMO RECEPTOR. Un organismo que recibe material genético de un organismo donante,

ORGANISMO TRANSGÉNICO, U ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE POR BIOTECNOLOGÍA (OMG): Organismo cuyo material genético (ADN/ARN) ha sido alterado por técnicas de ingeniería genética.

ORGANISMO. Cualquier forma viva de los cinco reinos (protista, monera, fungi, vegetal y animal).

PLANTA TRANSGÉNICA. Planta cuyo material genético fue transformado por medio de la adición de ADN de una fuente diferente del germoplasma parental, con uso de técnicas de ADN recombinante.

RIESGO. Combinación entre la magnitud de las consecuencias de una amenaza y la probabilidad de que tales consecuencias se presenten.

SEMICONFINADO. Se refiere a los métodos y prácticas para el manejo seguro de material que esté siendo evaluado en campo con el fin de minimizar el impacto ambiental en el proceso de prueba de materiales transgénicos que tienen posibilidad de comercialización. Se consideran dos niveles: Pruebas a nivel de parcela experimental y pruebas a nivel semicomercial. La evaluación del riesgo en este tipo de pruebas se juzga con un alto componente cualitativo, por lo que es esencial el análisis caso por caso, teniendo en cuenta la experiencia acumulada y la familiaridad con la especie en estudio.

VECTOR O AGENTE VECTOR. Organismo, material u objeto utilizado para transferir material genético del organismo donador al organismo receptor.

USUARIO. Cualquier persona natural o jurídica, pública, privada o mixta, nacional o extranjera, que realice actividades de introducción, uso, investigación, manejo, liberación al ambiente y comercialización en el territorio nacional de organismos genéticamente modificados, así como de las materias primas y productos derivados de éstas. Cualquier consumidor que compra y/o utiliza un OMG no es un usuario en el sentido de esta regulación a menos que su uso esté sometido a condiciones específicas.

TRANSFORMACIÓN GENÉTICA

Qué son y para qué sirven las plantas transgénicas?

Las plantas transgénicas o genéticamente modificadas, y en general todos los organismos transgénicos, son aquellos a los cuales se les ha introducido material genético nuevo (p.e., nuevos genes, nueva información genética), a través de medios no convencionales (sin necesidad de hacer cruzamientos de tipo sexual). Los nuevos genes pueden provenir de individuos de la misma especie o de otras especies, lo cual rompe la **barrera de la compatibilidad sexual** entre dos organismos para intercambiar información genética.

Se han utilizado básicamente dos mecanismos para obtener transgénicos:

- 1- La transformación mediada por un vector natural como es la bacteria del suelo *Agrobacterium tumefaciens* (Figura 3).
- 2- La transformación mediada por el **bombardeo de micropartículas** recubiertas con el material genético de interés (Figura 4).

Ambas figuras muestran que el material genético es introducido en células individuales, de las cuales se puede **regenerar un organismo completo** que expresa los genes que se la han introducido. Dentro de los genes introducidos generalmente van genes que permiten **seleccionar** las células que los han recibido. En el caso de las plantas, la nueva tendencia es usar genes que le permiten a las células alimentarse de azúcares que no utiliza en condiciones naturales (por ejemplo, manosa en vez de sacarosa).

Dependiendo del gen introducido, así mismo es la **utilidad de la planta transgénica**. Por ejemplo, la mayoría de las plantas transgénicas comercializadas hoy contienen genes de **resistencia a herbicidas y a plagas** (virus, insectos, y bacterias entre otros). Estas características pueden ser útiles para el agricultor, el productor de semillas, e indirectamente el consumidor, por el menor uso de pesticidas para controlar plagas, que igualmente beneficiaría al medio ambiente. Si el gen introducido mejora la **calidad nutritiva** de la planta y sus derivados comestibles (raíces, frutos, hojas, etc), el beneficiario directo sería el consumidor. El caso más reciente es el del arroz con alto contenido de Vitamina A .

En el **CIAT** se han desarrollado plantas transgénicas con resistencia a virus (arroz) y a herbicida (yuca, pastos tropicales), y actualmente se trabaja en la introducción de resistencia a insectos (en yuca). Existen también plantas transgénicas de frijol (*P. acutifolius*) con genes marcadores de selección. También se está colaborando con instituciones como la Universidad Nacional, CENICANA y CORPOICA para aplicar esta tecnología en tomate, frutales y caña de azúcar.

La liberación (pruebas en campo, comercialización y/o consumo) de plantas transgénicas está regida por normas de **Bioseguridad** establecidas en Colombia por el ICA. Esta reglamentación tiene como objetivo minimizar o prevenir el impacto negativo

que pudieran tener los organismos transgénicos y sus derivados en el ambiente y la salud humana. Por ser una tecnología "nueva", con gran potencial para mejorar el bienestar del hombre, deben tomarse precauciones para minimizar los efectos no deseados.

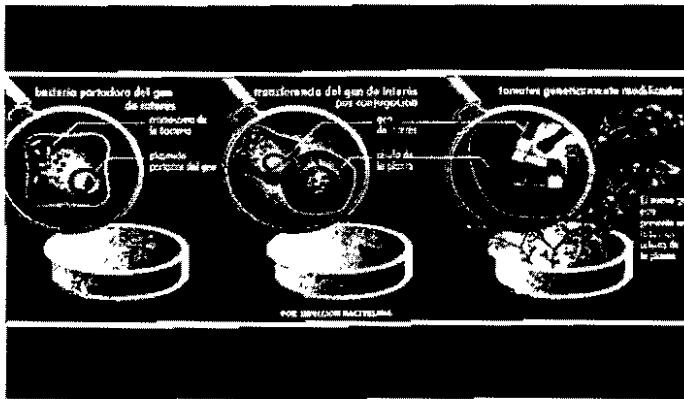


Figura 3.
Esquema del proceso de transformación genética mediada por *Agrobacterium*.
Fuente: MundoCientífico (1999).

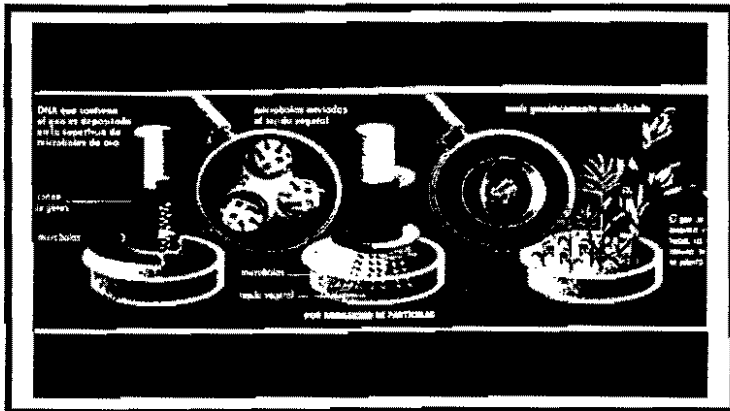


Figura 4.
Esquema de la transformación genética mediada por bombardeo de micropartículas.
Fuente: Mundo Científico (1999).

SISTEMA DE PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE LA YUCA

La falta de tecnologías para la producción de material de siembra en cantidad suficiente y bajo condiciones sanitarias óptimas, se ha convertido en un obstáculo para el desarrollo a escala comercial del cultivo de la yuca en Colombia.

La Unidad de Biotecnología, del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, está desarrollando dos sistemas de propagación de material de siembra con el objetivo de suplir la demanda a diferentes escalas y usuarios: para pequeños y medianos productores, usando el esquema de investigación participativa (bajo la financiación del PRGA) y para grandes productores mediante el sistema de bioreactores (®RITA) (bajo financiación de PBA-DGIS-Holanda).

El sistema para pequeños productores cuenta con un sistema de bajo costo en insumos (por ejemplo, azúcar de mesa, enraizadores comerciales, jugos de frutas, entre otros) y equipos sencillos (por ejemplo, jeringas, cucharas, olla a presión, cámaras de plástico) que permite obtener la misma tasa de multiplicación a la lograda en un laboratorio convencional (1:3-4). Este esquema se desarrolló en conjunto con un grupo de mujeres campesinas ubicadas en Santa Ana, Cauca.

Actualmente se está tratando de estabilizar el laboratorio de bajo costo como un sistema que pueda integrar varios cultivos (por ejemplo, plátano, mora y algún ornamental) que les permita a los agricultores tener un esquema productivo de plantas (para comercializar) que mejore sus ingresos. El objetivo final del proyecto es establecer un mecanismo para crear una microempresa rural que genere el material de siembra para un grupo de usuarios.

Este trabajo mostró que es posible producir material *in vitro* (en tubos de ensayo) de yuca en sistemas no controlados, con insumos locales y que el campesino mismo puede producir su material de siembra lo cual disminuye los costos (fig 1).

El proyecto de propagación masiva usando sistemas de bioreactores ®RITA busca escalar el proceso y aumentar el ingreso de los agricultores de la Costa Norte de Colombia a través del desarrollo de programas de producción de semilla de yuca de alta calidad fitosanitaria y genética. Este equipo diseñado por el grupo de investigación de CIRAD-Francia, se basa en el sistema de inmersión temporal, el cual ha sido usado con éxito en sistemas de embriogénesis somática de café (Berthouly, 1991), banano (Alvard et al 1993), caucho (Etienne et al 1993) y caña de azúcar (Lorenzo et al 1998) entre otros. El grupo de trabajo de la Unidad de Biotecnología ha implementado, o está implementando, el sistema de propagación en diferentes cultivos como yuca, lulo, tomate de árbol y ñame (usando nudos trozos de tallo con yemas). También lo está

utilizando para la producción de tejidos embriogénicos en yuca, arroz (de anteras) y el pasto *Brachiaria*.

Este sistema consiste en que los tejidos reciban alternadamente nutrientes y hormonas del medio de cultivo y un flujo de oxígeno durante el cultivo. Esto permite el crecimiento acelerado de tallos y hojas, lo cual prolifera un gran número de yemas para el siguiente ciclo de propagación.



Figura 1: Grupo de Mujeres de Santa Ana, Cauca recibiendo capacitación en propagación *in vitro* de yuca. Actualmente en esta zona se encuentra funcionando un laboratorio de bajo costo operado por 11 mujeres.

Los datos preliminares han mostrado que la tasa de multiplicación en este esquema se puede aumentar entre 1:6 - 1:10 veces lo cual representa aproximadamente el doble de la tasa convencional en medio sólido. Este sistema se está probando con diez clones (MCol 2215, MCol 1505, MTai 8, MEcu 72, CM 3306-4, CM 4574-7, CM 523-7, MBra 383, MBra 507, MCub 74) importantes para la Costa Norte y diferentes zonas productivas de yuca en Colombia (Escobar et al 200).

Actualmente estamos ajustando la metodología en pro de aumentar la eficiencia en la tasa de propagación, disminuir el tiempo entre ciclos y poder generar un sistema de bioreactores a bajo costo.

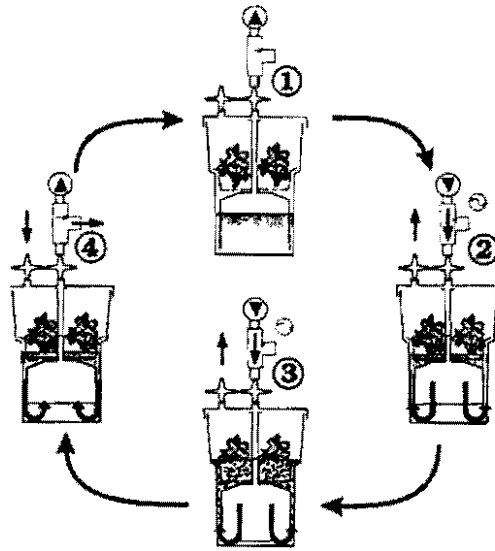


Figura 2: Sistema de funcionamiento de bioreactor RITA. Fase 1: Fase inicial del ciclo. Fase 2: El periodo de inmersión se activa, abre la válvula que permite el paso del aire a través del filtro 0.2 μ m y el medio sube y entra en contacto con el tejido, Fase 3: recambio de aire dentro del RITA, Fase 4: El ciclo termina, la válvula se cierra y el medio desciende hasta un nuevo ciclo.