



COLEGIO
LIBRE DE
EMÉRITOS

TRES DÉCADAS DE TRANSGÉNICOS

Director: Francisco García Olmedo



LA TRANSGÉNESIS VEGETAL

(Conferencia I)

**Francisco García Olmedo
Real Academia de Ingeniería**

Introducción

En 2012 se cumplen tres décadas desde que se resolvió el problema de la transgénesis en vegetales, avance que puede señalarse como el más importante que ha ocurrido en la biología vegetal y en la ciencia agronómica durante la segunda mitad del pasado siglo. Este avance ha supuesto una verdadera revolución en nuestro conocimiento del mundo vegetal y ha tenido un gran impacto en la producción agraria. Gracias a esta técnica se han podido conocer cosas tan sorprendentes como la reacción de una planta al tacto, cómo se fabrica una flor o cómo se transmiten mensajes de alarma dentro de una planta o entre plantas individuales y, por otro lado, se han podido introducir mejoras en las propiedades agronómicas de las plantas cultivadas que afectarán en 2012 a más de 150 millones de hectáreas en un total de 29 países, que representan casi el 60 por ciento de la población mundial. De los 15,4 millones de agricultores que adoptaron esta tecnología, 14,4 millones (el 93,5 por ciento) eran pequeños agricultores de países en vías de desarrollo, países en los que la implantación ha crecido rápidamente hasta casi igualar en superficie sembrada a la de los desarrollados. España fue el primer país europeo en cosechar transgénicos y sigue siendo el país europeo con mayor superficie sembrada de estos cultivos. El ciclo de cuatro lecciones que aquí comienza está destinado a educar a un público general, no especializado, sobre un tema tergiversado y artificialmente debatido en medios de comunicación y en el ámbito político.

Hace treinta años

La prioridad del avance científico correspondió, por unos pocos días, a un grupo europeo de investigadores de la Universidad de Gante, en cuyo laboratorio aprendí los fundamentos de la técnica, justo en el verano de 1982, cuando todavía no se había podido demostrar la expresión de los genes introducidos. En enero de 1983, participé también en el Miami Winter Symposium, en el que se anunció, por fin, el gran logro. Guardo memoria escrita de esos dos hitos fundacionales:

Gante, agosto de 1982

Pasé el verano de 1982 en el Laboratorio de Genética de la Universidad de Gante junto a una docena de investigadores, en la que se incluían desde un niño prodigio de la Universidad de Harvard hasta veteranos como yo, y estábamos allí para

aprender la técnica de introducir y expresar genes foráneos en plantas. Mark Van Montagu y Jeff St. Schell, nuestros anfitriones, llevaban años tratando de desarrollarla: sabían cómo introducir el ADN en una célula vegetal y cómo integrarlo en uno de sus cromosomas, pero no estaban seguros de haber conseguido que los genes introducidos se expresaran; pronto lo conseguirían. En realidad Mark y Jeff no habían descubierto el modo de transformar los vegetales sino que le habían robado el secreto a una bacteria, *Agrobacterium tumefaciens*, la verdadera inventora de la ingeniería genética en plantas. No habían sido los únicos en tratar de descifrar ese secreto: la norteamericana Mary-Dell Chilton les había planteado una dura competencia y la empresa Monsanto también había apostado fuerte por conseguir transformar plantas. Se había dado la explosión inicial que desencadenaría la que he designado como tercera revolución verde.

La tarea de espionaje no les estaba siendo fácil. A Mark y a Jeff les ayudaban varias decenas de jóvenes investigadores, llegados de los cuatro puntos cardinales, que se distribuían por un dédalo de pasillos medio obstruidos por extraños aparatos; en unos cubículos se oía música salsera, en otros a Bach e incluso de uno salía una misteriosa cadencia china; se trabajaba de noche y de día.

Lo que se sabía desde tiempo atrás era que la bacteria inducía tumores en el tallo de muchas plantas y se suponía que lo conseguía por influencia externa de alguna sustancia que ella misma fabricaba. Mark y Jeff eran contrarios a esa creencia general y sospechaban que la bacteria producía cambios genéticos en las células vegetales a partir de las cuales se formaba el tumor. Primero lograron demostrar que la bacteria introducía un trozo de su propio ADN, luego establecieron que este ADN se integraba en un cromosoma vegetal y, más tarde, que los genes incluidos en dicho ADN se expresaban en la planta: habían descubierto el secreto de la bacteria y, una vez resuelto el problema, inventaron cómo convencer a ésta para que introdujera en la célula vegetal cualquier gen que a ellos les interesara.

Por invitación del Instituto Karolinska, propuse en una ocasión la concesión del premio Nobel a Mark y a Jeff, y estuve a punto de incluir en la propuesta a la bacteria. Estoy seguro que se lo merece y que le gustaría mucho conocer al rey de Suecia.

Playboy Hotel, Miami Beach, enero de 1983

Las vetustas alfombras han contemplado en otros tiempos los pechos de papel cuché de las playgirls que hicieron la fortuna del astuto Hugh Hefner, yo he llegado con suficiente antelación para ocupar un sitio en la primera fila, al mismo nivel y a unos dos metros del atril del conferenciante, y me siento ante una mesa estrecha y larga en la que deposito mi cuaderno de notas. En pocos minutos se llenan las primeras filas de máquinas fotográficas, unas más aparatosas, las de los periodistas, y otras propias del espionaje, las de los agentes de las empresas de semillas. Empieza a crearse un clima de expectación que va devolviendo el esplendor de antaño al desvencijado salón. Todos quieren registrar el nacimiento de una nueva era de la Botánica y de la Agricultura, la de la revolución transgénica. En pocos minutos empieza la sesión científica en la que el avance se hará oficial por partida triple. Dos grupos norteamericanos y uno europeo se disputan el honor del invento. Las imágenes proyectadas aparecen y desaparecen a un ritmo más vivo que el habitual, como si quisieran hurtarse a los fotógrafos. La discusión que sigue a las presentaciones es la más violenta que jamás haya presenciado y el tiempo programado no da cabida sino a las nerviosas aportaciones de los que se disputan un premio que será sin duda sustancial. Yo sé que, por el tiempo de un suspiro, el honor ha sido ganado esta vez por los europeos aunque, dada la necesidad imperante en nuestro continente, el oro será una vez más para los gringos. He vivido la reunión científica más emocionante de mi vida y me siento en parte protagonista de ella, aunque sólo sea porque he pasado el verano anterior en Gante, aprendiendo el nuevo arte de la ingeniería o sastrería genética de los vegetales.

Han transcurrido tres décadas desde esos acontecimientos y tal vez resulte instructivo que actualice y comparta mis reflexiones sobre lo ocurrido a lo largo de estos treinta años. Lo haré a título de testigo de excepción y de modestísimo protagonista.

Consideraciones preliminares

Dada la confusión terminológica existente en el debate popular del tema, es conveniente empezar por establecer algunas precisiones. Términos tales como organismos genéticamente modificados (OGMs), alimentos transgénicos, ingeniería genética, ADN recombinante, transferencia génica, clonación, alimentos naturales,

mejora genética e, incluso, biotecnología han invadido nuestro lenguaje cotidiano sin orden ni concierto. A estas alturas empieza a ser difícil normalizar la situación, pero no se debe renunciar a ello.

La definición de Biotecnología abarca a todas las tecnologías mediadas por un ser vivo o por partes de él, sean éstas células o proteínas purificadas. Bajo esta definición se incluyen desde la propia agricultura, inventada hace diez milenios, y la fabricación de cerveza hasta la última forma de producir insulina humana. No es apropiado, por tanto, usar el término de forma restringida para referirse exclusivamente a los últimos avances basados en la biología molecular. Para esto último resulta más adecuado el uso de la expresión Biotecnología Molecular, que es aquella que implica el manejo de las células y organismos a través de su material genético, el ADN, en el tubo de ensayo.

La práctica totalidad de lo que ponemos en nuestra mesa ha sido genéticamente modificado. La domesticación de plantas y animales supuso una alteración muy drástica de sus genomas y la mejora genética subsiguiente ha ido añadiendo modificaciones extensas y sustanciales. Lo importante es la naturaleza de los cambios introducidos y no los métodos empleados para ello. De hecho, la ingeniería genética es sólo uno de esos métodos –una modalidad más de mejora genética– y sólo sirve para modificar uno o pocos genes de forma muy selectiva y controlada. En consecuencia, resulta absurdo denominar OGMs sólo a los productos de la ingeniería genética para contraponerlos a los supuestamente “naturales”.

Casi nada de lo que ponemos en nuestra mesa es natural, hasta el punto que la mayoría de los organismos de los que derivamos nuestro alimento han perdido su capacidad de sobrevivir por sí mismos en la naturaleza. Es más, para llegar a nuestra mesa han debido sufrir alteraciones genéticas que les privan de infinidad de sustancias naturales que son tóxicas para el ser humano. Una variedad moderna, modificada por ingeniería genética, está tan lejos de ser natural como las obtenidas por los métodos tradicionales.

Se consideran organismos transgénicos aquellos cuyo genoma ha sido alterado por ingeniería genética o, si se prefiere, por sastrería genética, ya que las operaciones

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

En lo que difieren la vieja y la nueva tecnología es en el repertorio génico que se puede manejar –genes de la misma especie, en el caso de la vieja, y de cualquier especie, en el de la nueva– y en el modo de introducir y transferir la modificación genética, utilizando el polen como vector, o por adición exógena (transformación), respectivamente. Como ya se ha indicado, los organismos modificados por transformación se denominan transgénicos. Sin embargo, llamar transgénicos a los alimentos derivados de dichos organismos resulta menos apropiado. Por ejemplo, es absurdo llamar transgénico al azúcar procedente de una remolacha transgénica, ya que es un producto químico puro, esencialmente indistinguible del aislado de la remolacha normal o de la caña de azúcar.

Lo que llama más la atención a los que no son especialistas es que se pueda extraer el ADN de cualquier organismo, aislar de él genes concretos, modificar y recombinar éstos en el tubo de ensayo y devolverlos al mismo organismo o a otro distinto del de partida. Al experto no le sorprende esto porque sabe desde hace muchas décadas que los genes no son más que moléculas.

Clonación

Se clona una molécula de ADN, una célula o un organismo si se multiplican de forma idéntica por cualquier procedimiento. La clonación, por tanto, no implica introducir alteración genética alguna, aunque lo previamente alterado pueda ser clonado y lo clonado pueda ser expresado transgénicamente. Para clonar un gen, un tramo de ADN, una vez aislado, disponemos de métodos abióticos y bióticos. Un cierto tipo de enzima permite producir miles de copias de una pieza de ADN mediante un ingenioso dispositivo de multiplicación en cadena; una especie de “clonación

química” en el tubo de ensayo (técnica de la polimerasa en cadena). Alternativamente, podemos introducir el gen en una célula –sea de la bacteria *Echerichia coli*, de la levadura de panadería o de cualquier otro organismo– para obtener copias de él cuando se multiplique la célula en cuestión. En el centro de todas estas tecnologías está el gen como entidad física y es imprescindible hacer una breve digresión sobre dicha entidad si queremos entenderlas.

El orden de las bases que, como eslabones, se engarzan para formar un *gen* confiere a éste su singularidad. En los cientos de bases que constituyen un gen está escrita -con sólo 4 letras, las mencionadas A,T,G,C- una pieza de información compleja. De izquierda a derecha, el gen comprende primero un tramo, llamado promotor, en el que está codificada la información relativa a su programa de expresión. Combinaciones de secuencias cortas dentro del promotor determinan en qué momento del desarrollo o de la vida del organismo y en qué tipos de células ha de expresarse el gen, así como a la intensidad de dicha expresión. Al promotor le sigue la llamada región codificante, que contiene la información constructiva, los “planos” del producto génico, de la proteína. Cuando hablamos de la intensidad de la expresión génica, nos referimos al número de copias de la proteína codificada que ha de fabricarse por cada célula.

Las proteínas son también macromoléculas formadas por el encadenamiento de elementos estructurales: los 20 aminoácidos distintos que las componen. A cada gen, a cada secuencia de bases en su parte codificante, le corresponde una proteína, una secuencia de aminoácidos. El conocimiento de la clave genética nos permite traducir el lenguaje en 4 signos del ácido nucleico al de 20 signos de las proteínas: cada secuencia de tres bases (tripleta) en el ADN determina un aminoácido en la proteína. Como el número de tripletas posibles a partir de cuatro signos es de 64, más de una tripleta distinta determina un aminoácido dado. El lenguaje del ADN es redundante.

Dos funciones, pues, tiene el gen: la informática, que reside en el promotor, y la arquitectónica, representada por la región codificante. La ingeniería genética puede operar en el tubo de ensayo sobre ambas regiones. Un gen aislado no tiene atributo alguno que de forma obvia lo identifique como procedente del elefante o del geranio;

representa tan sólo la información correspondiente a una pieza entre las decenas de miles que componen un organismo.

La capacidad de extraer, estudiar y modificar cada una de las piezas que componen un ser vivo ha sido la llave de un avance revolucionario del conocimiento biológico, una poderosa herramienta para averiguar los secretos de la maquinaria vital. Las aplicaciones derivadas de este avance, que han seguido a los descubrimientos básicos sin solución de continuidad, se conocen, como ya se ha indicado, con el nombre genérico de Biotecnología Molecular.

De un modo elemental podemos decir que las operaciones básicas de la ingeniería genética consisten en cortar de forma reproducible la doble cadena de ADN y en soldar o unir tramos de ADN en el orden requerido. Las herramientas que permiten hacer estas operaciones son enzimas (proteínas) con las propiedades catalíticas (facilitadoras) apropiadas, las cuales se aíslan de los organismos más diversos. Son centenares las herramientas enzimáticas distintas que se pueden encontrar en los catálogos comerciales para realizar todo el variado repertorio de alteraciones a que podemos someter al ADN in vitro.

La caracterización de un gen aislado incluye la determinación de su secuencia de bases, la lectura de la información genética que contiene plasmada en una sucesión determinada las letras (las bases) A,T,G,C. Y una de las alteraciones funcionales más simples que pueden introducirse consiste en cambiar el promotor original de dicho gen por el de otro, creando así un gen quimérico, lo que supone una programación distinta para la síntesis de la proteína codificada y determina que ésta se acumule en tejidos distintos de los originales cuando el gen es devuelto a un ser vivo.

La introducción de un gen aislado en una célula viva –proceso al que hemos denominado “transformación”– plantea al menos tres problemas: el de su acceso al interior de la célula, el de su replicación (copiado) para transferirse a las células descendientes de la transformada y el de su expresión (funcionamiento) en la propia célula transformada y en sus descendientes. Cuando sólo se quiere multiplicar el ADN, no es necesario que el gen se exprese. Para cumplir estos requisitos, se

recurre a un vector o vehículo de transformación, que no es más que una pieza adicional de ADN, con las características apropiadas, a la que se une el gen de interés.

Transgénesis

Como ya se ha dicho, las técnicas del ADN recombinante están contribuyendo no sólo a la elucidación de los mecanismos fisiológicos básicos de las plantas a nivel molecular sino también a aumentar la variabilidad disponible para la mejora genética, ya que ahora tenemos una metodología para aislar un gen de cualquier origen (vegetal, animal, bacteriano o incluso sintético), podemos producirlo en gran cantidad en una bacteria, y podemos reinsertarlo en la especie vegetal que interese. La herramienta básica del mejorador de plantas, la hibridación sexual, puede ser ahora complementada con la transferencia de pequeños fragmentos de ADN conteniendo uno o varios genes, sin requerir de retrocruzamientos largos y costosos. Para lograrlo, se necesitan además de la caracterización molecular de los genes a introducir, vectores adecuados y métodos eficientes para transformar y seleccionar las células vegetales transformadas, así como para regenerar plantas completas a partir de ellas.

El principal objetivo de la transgénesis vegetal sería, por tanto, insertar establemente un ADN concreto en el genoma nuclear de una célula vegetal capaz de dar lugar a una planta transformada completa. Transformación sin regeneración o regeneración sin transformación estable no servirían nuestros propósitos.

Muchas células vegetales son totipotentes y pueden ser estimuladas a regenerar plantas completas *in vitro*, vía organogénesis (formación de brotes) o embriogénesis, siempre que en el medio de cultivo se mantenga un balance nutricional y hormonal apropiado. Estas células totipotentes (competentes) habrán de ser identificadas para poder ser transformadas y los procedimientos de regeneración serán diseñados para minimizar el “stress genómico” que podría conllevar la aparición de anomalías cromosómicas y/o genéticas en las plantas regeneradas (variación somaclonal).

Los vectores utilizados para la transformación de plantas deben llevar genes “marcadores” que permitan seleccionar (genes seleccionables) y/o reconocer las

células transformadas (genes delatores). Estos genes, dominantes y generalmente de origen microbiano, se ponen bajo el control de promotores eucarióticos fuertes que sean funcionales en las plantas. Los genes marcadores selectivos (Tabla I), codifican proteínas cuya actividad enzimática permite el crecimiento celular en presencia de antibióticos o herbicidas, bien porque detoxifican al agente selectivo (Kanamicina^R, Fosfotricina^R) o porque codifican enzimas que manteniendo sus propiedades catalíticas no interaccionan con dicho agente (Glifosato^R). Para que la selección sea efectiva, las células vegetales sin transformar deben ser susceptibles a concentraciones relativamente bajas del correspondiente agente selectivo.

Los genes marcadores delatores codifican proteínas cuya actividad enzimática se puede detectar fácilmente utilizando los sustratos adecuados. Los más utilizados codifican los enzimas β -glucuronidasa (Gus), luciferasa (Lux), β -galactosidasa (Lac Z) y más recientemente se ha introducido el gen que codifica la denominada proteína fluorescente verde. Obviamente estos genes sólo serán útiles si no existe la misma actividad enzimática endógena en las células no transformadas. Los genes delatores son de gran utilidad en el estudio funcional de promotores, bien mediante transformación estable o mediante expresión transitoria, que permite evaluarlos a las 24-48 horas después de la transferencia del ADN.

Otros componentes de los vectores de transformación incluyen secuencias diana para varias endonucleasas de restricción ("multiple cloning sites") donde clonar el gen deseado, un origen de replicación bacteriano y un marcador procariótico seleccionable para mantenimiento y selección del plásmido en *Escherichia coli*. Plásmidos de este tipo, conteniendo además un gen seleccionable en plantas, pueden usarse directamente como vectores de transformación en el método "biolístico" (pistola de genes). En vectores diseñados para utilizar *Agrobacterium* otras manipulaciones son necesarias.

Tabla I. Genes marcadores seleccionables

Gen	Actividad enzimática	Resistencia a:
Antibióticos		
nptII	Neomicina fosfotransferasa	Kanamicina G418 Neomicina
hpt	Higromicina fosfotransferasa	Higromicina B
dhfr	Dihidrofolato reductasa	Metrotrexato
Herbicidas		
Bar	Fosfinotricinaacetiltransferasa	Fosfinotricina
als	Formas mutantes de: Acetolactato sintasa	Sulfonilureas Imidazolinonas
aroA	5-enolpiruvilshikimato-3-fosfatosintasa	Glifosato

Métodos basados en el plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens*

Estos métodos de transformación utilizan vectores derivados de los megaplásmidos de la bacteria fitopatógena *Agrobacterium tumefaciens*, una bacteria que transfiere a la planta que infecta el ADN situado entre los bordes izquierdo y derecho (LB, RB) del llamado T-DNA. En la naturaleza, *Agrobacterium* infecta a la mayoría de las plantas dicotiledóneas y a algunas monocotiledóneas, produciendo tumores. La producción de estas masas desdiferenciadas de células es el resultado de la transferencia e integración en el genoma de la planta del pequeño fragmento del T-DNA (ADN de transferencia) del plásmido Ti. La caracterización molecular de estos plásmidos, el proceso de transferencia y las causas de la sintomatología que producen han sido estudiados con gran detalle. Estos plásmidos presentan dos regiones esenciales para la movilización e integración del T-DNA en las células vegetales, una corresponde a ambos extremos del T-DNA (LB y RB) que consisten en una repetición directa casi perfecta de 25 pb

(5'TGACAGGATATATTGGCGGGTAAAC3')

y la otra es la llamada región *Vir* (virulencia) que puede actuar en "trans" y que se requiere para que la escisión, transferencia e integración del T-DNA sean efectivas.

En las cepas salvajes de *Agrobacterium tumefaciens* que causan la enfermedad 'agalla de la corona', el crecimiento tumoral es debido a la expresión de al menos tres genes que dirigen la síntesis de las fitohormonas auxinas y citoquininas. Estas agallas separadas de la planta huésped continúan creciendo, sin necesidad de añadir hormonas al medio de cultivo *in vitro*, en presencia de carbenicilina que inhibe el crecimiento de *Agrobacterium* sin dañar a las células vegetales. En el T-DNA, que se ha integrado en el genoma de la planta receptora, también se encuentran genes para biosíntesis de opinas (nopalina, octopina, etc.). Las opinas son aminoácidos con esqueletos carbonados especiales que sólo la cepa concreta de *A. tumefaciens* que donó el T-DNA puede utilizar como fuente de C y de N (una clara ventaja selectiva sobre otras bacterias del suelo), debido a que el plásmido original fuera de su T-DNA tiene genes que permiten el catabolismo de las opinas.

Mutaciones en la región *Vir* suelen abolir la formación de tumores ya que impiden la transferencia del T-DNA desde el plásmido bacteriano al cromosoma vegetal. Esta transferencia genética entre reinos de la naturaleza se realiza normalmente al azar y en un número variable de copias (1-3 generalmente). Cuando se separan en dos plásmidos distintos, el T-DNA y la región de virulencia, las cepas conservan todas sus propiedades, lo que indica que los genes de virulencia actúan en *trans*. Esta región *Vir* está compuesta de seis genes (*vir A*, *B*, *D*, *G*, *C* y *E*). El *vir A* codifica un producto de la membrana interna de *Agrobacterium*, que es un quimiorreceptor de acetosiringona. Este compuesto orgánico es excretado al medio por las células vegetales heridas y ejerce una quimiotaxis positiva sobre *A. tumefaciens*. La proteína *Vir A* fosforila a la de *vir G* que así activa la transcripción de los otros genes *Vir*. Un suceso temprano en el proceso de transferencia del T-DNA es la formación de una mella en un sitio concreto del borde derecho (entre la 3ª y la 4ª base del cordón inferior), iniciándose así la liberación de ADN monocatenario en dirección 5'→3' hacia el borde izquierdo, en un proceso similar al de la conjugación bacteriana. El gen *vir D* codifica una endonucleasa que produce las mellas en las secuencias bordes. El gen *vir E* codifica una proteína con afinidad por ADN de cordón sencillo que estabiliza y protege el T-DNA en su transporte al núcleo vegetal.

Además de los genes del plásmido Ti, existen genes en el cromosoma de *Agrobacterium* que afectan a la virulencia, relacionados con síntesis de proteínas de

pared, de glucanos, de fibrillas de celulosa, etc., que pudieran tener un papel más general en interacciones bacteria-planta. Este tipo de genes también se encuentran en otras bacterias del suelo.

Para transferir genes a plantas mediante *Agrobacterium*, hoy en día se utiliza la llamada “estrategia de vectores binarios”, aprovecha el hecho de que las funciones de la región *Vir* pueden actuar en “trans” respecto al T-DNA, permitiendo que éstas puedan ir en un plásmido distinto al que contiene, entre las secuencias de los extremos LB y RB del T-DNA, los genes que se desean introducir en la planta receptora. De este modo los genes foráneos se pueden introducir e integrar en la planta mediante co-cultivo de la bacteria con fragmentos de hoja u otros tejidos. Posteriormente, los genes marcadores ayudarán al reconocimiento y selección de las células transformadoras durante el proceso de regeneración hasta planta completa.

En un principio la transferencia de genes mediada por *Agrobacterium* se limitó a la familia de las Solanáceas (tabaco, patata, tomate, etc.), pero hoy es posible transformar con este procedimiento una amplia gama de especies. No sólo ha sido importante el desarrollo de genes marcadores apropiados a cada especie a transformar, sino también la mejora de la tecnología del cultivo de tejidos y en particular la regeneración de brotes (organogénesis somática) en las plantas de interés agronómico. En este sentido, las leguminosas y las gramíneas han sido particularmente recalcitrantes, pero finalmente se las ha logrado transformar también por este procedimiento.

Transformación mediante la ‘pistola de genes’: el método ‘biolístico’.

Los métodos directos de transformación de células vegetales son métodos físicos capaces de transferir ADN a cualquier célula o tejido vegetal con el único requerimiento de proteger a este ADN de degradación mecánica o ataque de nucleasas. Entre estos, el más utilizado es el llamado método ‘biolístico’ o de la ‘pistola de genes’ que está diseñado para transformar células completas que forman parte de un órgano o tejido, las cuales se bombardean utilizando microproyectiles de oro o tungsteno coloidales (1-3 μm) recubiertos de ADN y altamente acelerados

mediante cargas explosivas (pólvora), descargas eléctricas a alto voltaje, expansión de gases a alta presión (helio), o aire comprimido.

Actualmente es el procedimiento más utilizado, sobre todo en aquellas especies recalcitrantes a la transformación, ya que posibilita bombardear órganos o tejidos muy jóvenes y delicados sin que pierdan su capacidad regenerativa. Con esta tecnología en los últimos cinco años se han obtenido cereales transgénicos (trigo, cebada, arroz, maíz, centeno, avena y sorgo) tradicionalmente consideradas especies recalcitrantes.

