

Impacto, Presente y Futuro de la Biotecnología en el Mejoramiento de Solanáceas

Gilberto Eduardo Salinas García

**Profesor-Investigador. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo
León.**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, 31 de Octubre del 2001

CONTENIDO

I. Introducción

II. Impacto de la Biotecnología en el Mejoramiento de Solanáceas: el Caso de la Papa en México

III. El Presente de la Biotecnología de Solanáceas.

Resistencia a virus

Resistencia a bacterias y hongos

Resistencia a insectos.

Resistencia a nematodos

Resistencia a herbicidas

Resistencia a estrés abiótico

Calidad del producto

Fármacos, usos alternativos y valor agregado

Mejoramiento asistido por marcadores moleculares

Detección de patógenos

IV. El Futuro de la Biotecnología en el Mejoramiento de Cultivos

V. Bibliografía Recomendada

Impacto, Presente y Futuro de la Biotecnología en el Mejoramiento de Solanáceas

Gilberto Eduardo Salinas García¹

El desarrollo de una agricultura sustentable es uno de los mayores retos de ciencia y de la sociedad humana. Agricultura sustentable se define como la producción de alimento para satisfacer las necesidades actuales de la población humana, sin limitar la posibilidad de que generaciones futuras satisfagan sus propias necesidades, mientras que se mantiene un ambiente saludable.

A pesar de los logros obtenidos con la introducción de tecnologías modernas de producción agrícola, aún quedan en el mundo más de 800 millones de personas mal nutridas. Se estima que para el año 2025 se deberá duplicar la producción mundial de alimentos, si se quieren satisfacer las demandas de una población más grande y con mayor poder de compra. Para lograr lo anterior se requerirá el uso de las mejores tecnologías de producción de cultivos, incluyendo la biotecnología moderna.

La EFB (European Federation of Biotechnology) (1994) define biotecnología como “la integración de las ciencias naturales con organismos, células, partes de los anteriores y análogos moleculares para la obtención de productos y servicios”. Esta definición involucra tanto a la biotecnología tradicional (producción de queso, cerveza, vino y otros alimentos), como a la nueva biotecnología. Esta última se refiere sobretodo a la utilización de métodos de modificación genética con técnicas del DNA recombinante y a la manipulación *in vitro* de células, tejidos y organismos; asimismo, incluye los avances recientes de los procesos biotecnológicos tradicionales.

Hace 15 años, la biotecnología vegetal sólo incluía técnicas para el cultivo de tejidos *in vitro* y la producción de anticuerpos monoclonales. La tecnología del DNA recombinante se aplicaba sólo en los cultivos de mayor importancia económica para los países desarrollados (e.g. soya, maíz, algodón) y en especies modelo (e.g. arroz, *Arabidopsis*). Hoy en día, la transformación vegetal (inserción y expresión de uno o más genes que confieren caracteres potencialmente útiles en plantas, ganado, peces y especies arbóreas), la detección por técnicas moleculares de organismos patógenos y el mejoramiento genético asistido por marcadores moleculares, se aplican en la mayoría de los cultivos, incluyendo cultivos anuales y perennes que se producen en todos los climas. En particular, estas técnicas se aplican rutinariamente en el mejoramiento de algunas Solanáceas, tales como jitomate, chile, tabaco, petunia, belladona, berenjena y papa.

Al nivel mundial, en 1999 se registraron para su cultivo comercial más de 70 variedades transgénicas de cultivos. Estas incluyen nuevas variedades de algodónero, papa, calabaza, maíz, soya, colza, papaya, tabaco, tomate y trébol. Asimismo, se autorizaron más de 15,000 ensayos con este tipo de variedades. Actualmente, más de 100 especies de plantas están en proceso de modificación genética en diversos laboratorios, invernaderos, o en ensayos de campo.

¹ Profesor-Investigador. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. Carretera Zuazua-Marín Km 17, Marín, N.L. México. Tel. (824) 8-0101 y 8-0259. Correo electrónico: gisalina@hotmail.com

Para tener una idea de la importancia de la biotecnología agrícola se puede citar que en 1999 se sembraron a nivel mundial mas de 40 millones de hectáreas con cultivos transgénicos, principalmente de maíz, soya, colza, algodón y papa (El 85% de esta superficie correspondió a países desarrollados - EEUU, Canadá, España, Australia y Francia - y 15% a países en vías de desarrollo - Argentina, México, China y Sudáfrica -. En el período de 1997-1999, el valor de las transacciones realizadas con semillas transgénicas a nivel mundial alcanzó los 18,000 millones de dólares.

La familia Solanaceae incluye mas de 2000 especies pertenecientes a 95 géneros. A nivel mundial, los géneros con las especies de mayor importancia económica son: *Solanum* (papa y berenjena), *Lycopersicon* (jitomate), *Nicotiana* (tabaco), *Capsicum* (chile dulce y picante), *Petunia*, *Physalis* (tomate de cáscara, tomate fresa, cereza de azúcar y otras) y *Atropa* (belladona) (Watson y Dallwitz, 2000). En los cuadros 1, 2 y 3 se presentan los caracteres y genes de las variedades transgénicas de papa, tomate, belladona, petunia y tabaco autorizadas para uso, desconfiamiento o comercialización, en diversos países en el mundo. Se puede apreciar que en el caso de la papa la ingeniería genética se ha dirigido a obtener variedades resistentes a coleópteros (escarabajo colorado) y a virosis, para lo cual se han utilizado genes derivados de la bacteria del suelo *Bacillus thuringiensis* y los genes responsables de la síntesis de la proteína de la cápside de los propios virus, respectivamente (Cuadro 1). En el caso del tomate, el énfasis ha sido en la modificación del proceso de maduración del fruto y en la resistencia a lepidópteros (Cuadro 2). En belladona se han desarrollado variedades transgénicas resistentes a insectos. En petunia se han utilizado genes, que se mantienen como secreto comercial, para producir variedades resistentes a enfermedades en general, a bacterias, a hongos, al herbicida oxynil, con mayor vida de anaquel o con modificaciones en la pigmentación de la flor (Cuadro 3).

Cuadro 1. Caracteres y genes de algunas variedades transgénicas de papa autorizadas para uso, desconfiamiento o comercialización.

ESPECIE	CARACTER	GEN	COMPANIA	ESTADO
Papa	Resistencia a coleópteros + PVY	Proteína de la cápside PVY / Cryl IIIA (Btt) / NptII	Monsanto	Siembra desconfinada 1999. EEUU
Papa	Esterilidad masculina + Resistencia a coleópteros + PLRV	Cryl IIIA (Btt) / ORF 1 y 2 de PLRV / NptII	Monsanto	Siembra desconfinada 1998. EEUU
Papa	Resistencia a coleópteros	Cryl IIIA / NptII	Monsanto (Canadá)	Uso alimenticio aprobado 1996. CAN, JPN, EEUU
Papa (Newleaf)	Resistencia a coleópteros	Cryl IIIA (Btt) / NptII	Monsanto (Canadá)	Uso alimenticio aprobado 1995. CAN, JPN, EEUU

Cuadro 2. Caracteres y genes de algunas variedades transgénicas de tomate autorizadas para uso, desconfinamiento o comercialización.

Tomate	Resistencia a lepidópteros	CryIIA(c) (Btk) /NptII	Monsanto	Uso alimenticio aprobado 1998. EEUU
Tomate	Maduración del fruto alterada	S-adenosil metionina transferasa del fago T3 / NptII	Agritope	Uso alimenticio aprobado 1996. EEUU
Tomate	Maduración fruto alterada	ACC deaminasa – <i>Pseudomonas chlororaphis</i> / NptII (<i>E. coli</i>)	Monsanto	Siembra desconfinada 1995. EEUU
Tomate	Maduración fruto alterada	ACC deaminasa – <i>Pseudomonas chlororaphis</i> / NptII (<i>E. coli</i>)	Monsanto	Siembra desconfinada 1995. EEUU
Tomate	Maduración fruto alterada	Poligalacturonasa antisentido / NptII (Resistencia a kanamicina)	Monsanto	Siembra desconfinada 1995. EEUU
Tomate	Maduración fruto alterada	Poligalacturonasa / Poligalacturonasa antisentido / NptII (<i>E. coli</i>)	Zeneca & Peto Seed	Uso alimenticio aprobado 1994. EEUU, CAN
Tomate	Maduración fruto alterada	ACC sintetasa– Tomate/ SM NptII (<i>E. coli</i>)	DNA Plant Technology	Uso alimenticio aprobado 1994. EEUU, CAN
Tomate (FLAVR SAVR)	Maduración del fruto alterada	Poligalacturonasa antisentido / NptII	Monsanto (Calgene)	Uso alimenticio aprobado 1994. EEUU, JPN, CAN, MEX , UK

Cuadro 3. Caracteres y genes de algunas variedades transgénicas de belladona, petunia y tabaco autorizadas para uso, desconfinamiento o comercialización.

Belladona	Resistencia a insectos general	NptII / Hyoscamina 6B hidroxilasa	U. de Chicago	1997, 1997, 1996, 1995, EEUU.
Petunia	Mayor vida de anaquel	Secreto comercial / NptII	Monsanto	1997. EEUU
Petunia	Resistencia a enfermedades general	Secreto comercial / B-glucoronidasa / NptII	Sanford Scientific	1996. EEUU
Petunia	Resistente a bacterias y a hongos	Secreto comercial / Higromicin fosfotransferasa / B-glucoronidasa / NptII	Pan American Seed	1996, 1995, 1995. EEUU
Petunia	Metabolismo de los pigmentos alterado	Dihidrofolato reductasa de maíz / NptII	Rogers NK	1992. EEUU
Tabaco	Tolerancia a herbicida Oxynil	Nitrilasa <i>Klebsiella ozaenae</i>	SEITA	Mercadeo autorizado 1993. UE

II. Impacto de la Biotecnología en el Mejoramiento de Solanáceas: el Caso de la Papa en México

En 1991 el gobierno de México y Monsanto llegaron a un acuerdo para que esta última donara tecnología de resistencia no-convencional (transgénesis) a virus de la papa. El proyecto resultante, financiado por la Fundación Rockefeller, contempla que el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y el Centro de Investigaciones Avanzadas (CINVESTAV) apliquen la tecnología en variedades de uso nacional. Se han desarrollado versiones transgénicas de las variedades Norteña y Rosita con resistencia a PVX, PVY y PLRV; asimismo, se ha incorporado resistencia a los dos primeros virus en la variedad Alfa (Quaim, 1998). Se espera que este año (2001) se inicie la producción comercial de semilla de Norteña y Rosita. Ya que la semilla de estas variedades aun no se siembran comercialmente, el posible impacto de su adopción se ha analizado cuantitativamente a través de un modelo de desplazamiento del mercado mexicano de papa. Considerando que el uso de semilla libre de patógenos es muy limitada en México – sólo en el 23% de la superficie sembrada se utiliza semilla certificada – se estima que el rendimiento neto se incrementará en 5% cuando se introduzcan variedades resistentes a PVX y PVY y en un 22% cuando se agregue la resistencia a PLRV. Estos incrementos en productividad elevarán los ingresos de los productores y también beneficiarán a los consumidores nacionales quienes pagarán precios más bajos. Se estima que en un mercado cerrado, aproximadamente la mitad de los beneficios creados por esta tecnología llegará a los consumidores. En un mercado abierto al comercio mundial, el beneficio disminuiría ligeramente.

III. El presente de la biotecnología de solanáceas.

A continuación se describen algunos de los avances de la investigación biotecnológica en solanáceas, haciendo especial énfasis en papa, tomate, tabaco y chile.

Resistencia a virus

Este es el mayor éxito de la ingeniería genética en Solanáceas. Un buen número de variedades de papa han sido transformadas con los genes de la proteína de la cápside de los virus PVX, PVY, PLRV y “mop top” (Davies, 2000). Como se mencionó anteriormente, en México se ha incorporado resistencia a PVX, PVY y PLRV en las variedades Norteña y Rosita. Asimismo, se está desarrollando una versión de la variedad Alfa con resistencia a los dos primeros virus (Quaim, 1998).

Otras estrategias que se están utilizando para generar resistencia a virus en papa, incluyen la transformación con genes del virus que controlan la síntesis de proteínas necesarias para el movimiento del virus dentro de la planta, genes de proteasas virales que procesan poliproteínas y genes de replicasas.

Asimismo se ha logrado la transformación de papa con genes de proteínas antivirales (e.g. RIP o proteínas desactivadoras de ribosomas) de otras especies (Pokeweed), produciéndose resistencia a PVX y PVY. En estos momentos se está tratando de clonar el gen Rx de la papa, el cual confiere resistencia al virus PVX y el cual se ha encontrado que además suprime la replicación de otros virus.

También se han utilizado genes de mamíferos (e.g. oligonucleótido sintetasa) para obtener plantas de papa con resistencia a PVX.

Resistencia a bacterias y hongos

El mayor éxito en papa se ha obtenido transformando con genes responsables de la síntesis de enzimas líticas provenientes de virus, insectos y bacterias. En particular la expresión del gen de la lisozima de fago T4 en papa, reduce el daño causado por *Erwinia carotovora*.

Asimismo, se ha observado que plantas de papa transformadas con genes codificantes de cercopinas reducen el daño causado por *Erwinia carotovora* y *Phytophthora infestans*.

En la actualidad se está intentando utilizar genes responsables de la síntesis de proteínas antifungales provenientes de diversas fuentes, para reducir el daño causado por hongos. Se piensa que será necesario la sobreexpresión de un conjunto de genes para lograr una resistencia duradera.

Resistencia a insectos.

La mayor parte de las variedades transgénicas comerciales de papa con resistencia a la palomilla del tubérculo y al escarabajo colorado utilizan genes de diversas subespecies de *Bacillus thuringiensis*. En la actualidad la principal preocupación es definir la mejor estrategia de uso, incluyendo el establecimiento de refugios para la plaga, de tal manera que se prologue su efectividad.

La investigación se concentra en localizar y clonar regiones promotoras que dirijan la expresión de los genes únicamente a los tejidos de los cuales se alimentan las plagas.

Resistencia a nematodos

No existen aún variedades comerciales con resistencia a nematodos. La investigación se dirige a la expresión de genes de lectinas (e.g. Concanavalina A), las cuales se adhieren al aparato bucal de los nematodos, impidiendo su alimentación. También se están utilizando genes que producen productos citotóxicos e inhibidores de enzimas (similares a los descritos para bacterias y hongos). Actualmente no existe mucha información acerca de su efectividad. Por otra parte, recientemente se ha clonado el gen de la enzima β -1,4 endoglucanasa de los nematodos *G. rostochiensis* y *H. glycines*, la que se sabe es uno de los factores de patogenicidad que permite a estas especies disolver las paredes de celulosa y xiloglucano de las células vegetales. La técnica para expresar planticuerpos en las células del apoplasto está bien establecida, por lo que se piensa que se pueden usar para obtener resistencia contra nematodos que migran intracelularmente, así como contra aquellos que forman quistes.

Resistencia a herbicidas

El uso de herbicidas representa un tercio de la cantidad total de pesticidas que se utilizan en el mundo. Existen más de 100 herbicidas comerciales. El herbicida ideal combina alta efectividad, baja toxicidad y fácil biodegradación. Sin embargo, la mayoría de los herbicidas actúan sobre procesos vegetales universales, tales como la fotosíntesis y la síntesis de aminoácidos, los cuáles son idénticos tanto en plantas de cultivo como en maleza. Esto produce herbicidas que no son selectivos. Una buena parte de los nuevos y poderosos herbicidas que son fácilmente degradables y que muestran baja toxicidad en mamíferos muestran esta falta de selectividad. En vista de lo anterior, la resistencia de plantas de cultivo a este tipo de herbicidas es un carácter con un alto valor agronómico y económico, y con un efecto favorable sobre la calidad del ambiente. Algunas de las estrategias que se han seguido para obtener plantas resistentes a herbicidas son las siguientes:

- a) Transformación de una planta con la versión mutante del gen responsable de la enzima "objetivo" sobre la que el herbicida actúa. Por ejemplo se aisló un gen mutante de la bacteria *Salmonella typhimurium* que confiere resistencia a glifosato (Faena o Roundup). La enzima mutante tiene un aminoácido sustituido (prolina por serina) que reduce la afinidad del glifosato por la enzima.
- b) Tolerancia por sobreproducción de la enzima objetivo. La resistencia se logra por la introducción de copias extras del gen que controla la síntesis de la enzima objetivo, preferentemente bajo el control de un promotor fuerte (como el 35S CaMV). Un ejemplo de esta estrategia son plantas de tabaco y petunia que producen un exceso de 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintetasa y toleran el herbicida glifosato.
- c) Resistencia por la introducción de un gen que codifica una enzima destoxicante. Algunos herbicidas como el bialophos actúan inhibiendo la glutamina sintetasa, la cuál cataliza la conversión de ácido glutámico en glutamina, afectando con esto el metabolismo del amonio, produciendo niveles tóxicos para la planta de este último compuesto. La bacteria *Streptomyces hygroscopicus*, que en forma natural sintetiza bialophos, también produce, una enzima destoxicante llamada fosfoinotricin acetiltransferasa (PAT). Células de tabaco han sido transformadas con el gen que codifica PAT bajo la regulación del promotor 35S CaMV. Las plantas regeneradas fueron totalmente resistentes a bialophos y exhibieron la producción de PAT. Siguiendo el mismo procedimiento se han obtenido líneas de papa, tomate, colza y betabel resistentes a este herbicida.

Resistencia a estrés abiótico

Se ha insistido que la resistencia a sequía, salinidad y a la alta o baja temperatura, posiblemente estén bajo control poligénico. Sin embargo, se ha observado que la expresión de proteínas anticongelantes tipo I, provenientes de *Pseudopleuronites americanus*, en papa resulta en una reducción significativa en la plasmolisis de hojas después de un tratamiento de – 20 °C por 2 horas.

Asimismo, la expresión en papa de genes de tomate codificantes de formas cloroplásticas y mitocondriales de superóxido dismutasas inducen la tolerancia al herbicida paraquat y a otras formas de estrés foto-oxidativo (tal vez funcione también para otras fuentes de estrés oxidativo aún desconocidas).

La sobreexpresión de genes responsables de la producción de osmolitos, tales como azúcares y alcoholes, es una de las estrategias que se están utilizando para inducir la tolerancia a sequía, salinidad o temperaturas extremas. Uno de estos genes ha sido aislado del virus PLRV y es responsable de la síntesis de una proteína de 17kD llamada P4 o pr17, la cual es usada por el virus para moverse. La expresión de esta proteína en plantas transgénicas también afecta el flujo en el floema, produciendo una alteración en la distribución de carbohidratos (azúcares y almidón). Se ha demostrado que plantas de papa transformadas con una versión modificada de este gen exhiben resistencia a factores bióticos (PLRV, PVY, PVX) y abióticos (sequía y salinidad).

Calidad del producto

La relación amilopectina amilasa es importante para determinar el uso que se le puede dar al almidón, la ramificación de la amilopectina le da al almidón sus propiedades espesantes. En papa se ha clonado y secuenciado el gen de la sintetasa del almidón adherido al granulo (GBSS1) y subsecuentemente se han desarrollado variedades con almidón con alto contenido de amilopectina (sin aparente efecto sobre el rendimiento) a través del silenciamiento del gen GBSS1, por medio de técnicas de RNA antisentido. Asimismo, se han aislado genes que reducen el contenido de fosfato en el almidón (gen R1), lo cual afecta sus propiedades pegantes, abriendo la posibilidad de la producción de nuevos polímeros. Otras modificaciones incluyen la expresión en papa de genes heterólogos que codifican la glucan sintetasa y otras enzimas ramificadoras de importancia en la industria de los alimentos. Asimismo, Monsanto ha obtenido líneas de papa transgénica con una producción elevada de almidón, a través de la sobreexpresión del gen de la ADP glucosa fosforilasa de *E. coli*.

Una característica de gran importancia para la industria de las frituras a partir de papa, es el balance de azúcar en el tubérculo. Esta característica es importante ya que el exceso de hexosas produce un color oscuro del producto al momento de freírlo. Por esta razón, en México la industria de las frituras sólo adquiere tubérculos de la variedad Atlantic. En la actualidad se están estudiando los genes involucrados en la síntesis y degradación del almidón, así como en la biosíntesis y degradación de los azúcares reductores.

La cosecha mecánica y el mal manejo del tubérculo, incrementa la frecuencia de lesiones necróticas en la papa, lo cuál disminuye su valor para el mercado en fresco. Las lesiones ocasionan la síntesis de pigmentos (negros, cafés y rojos), la cual es catalizada por la enzima polifenol oxidasa (PPO). La actividad de esta enzima ha sido disminuida en líneas de papa transgénica obtenidas por las compañías Monsanto, Keygene y otros, a través del silenciamiento de los genes PPO.

Fármacos, usos alternativos y valor agregado

Las plantas transgénicas están emergiendo como un sistema importante para la producción de proteínas a gran escala. Se han desarrollado plantas transgénicas que producen y almacenan compuestos (fármacos) y metabolitos (fructanos) que pueden ser una alternativa a los fermentadores. Los ejemplos exitosos incluyen la producción de: albumina de suero humano, α amilasa, quimosina, anticuerpos monoclonales, eritropoyetina, citoquininas, insulina, interleukinas, hormona del crecimiento, diversas vacunas y varias otras. Para este propósito se han utilizado principalmente especies de solanáceas, incluyendo: tabaco, papa, petunia y tomate. Por ejemplo, en papa se está expresando un transgen que produce una enterotoxina liable por calor, la cuál se ha demostrado que produce inmunización contra la hepatitis B en ratones. Asimismo, se está produciendo albumina de suero humano con rendimientos de hasta 0.2 g por kilogramo de proteína en papa transgénica.

Mejoramiento asistido por marcadores moleculares

El modelo fenotípico básico indica que las características de una planta son resultado de la suma de los efectos del genotipo y del ambiente. De estos componentes solo una porción del efecto de genotipo (llamado valor aditivo) es heredable. El mejoramiento o avance que se puede tener al seleccionar plantas superiores dentro de una población con variabilidad genética, depende en buena medida de la correspondencia que exista entre el fenotipo y el valor aditivo. La selección basada directamente en las características del DNA es una idea atractiva, ya que permite maximizar esta correspondencia, evitando el efecto “distorsionante” que causa el ambiente sobre el fenotipo de una planta.

Adicionalmente, cuando se está interesado en caracteres donde la selección “visual” es difícil o imposible de realizar, como es el caso de proyectos de mejoramiento que involucran varios genes, genes recesivos, expresión tardía del carácter de interés, requerimientos especiales en cuanto a las condiciones de selección, o el costo es elevado para la cuantificación del carácter, el uso de marcadores moleculares puede significar un ahorro considerable de recursos (Dreher *et al.* 2000).

Además de apoyar el proceso de selección, los marcadores moleculares se están utilizando para ordenar, caracterizar y aprovechar la variabilidad genética que se utiliza en el mejoramiento genético, de esta manera se pueden conformar colecciones de germoplasma que resguarden la diversidad genética de las especies. Adicionalmente, las “huellas moleculares” de las variedades se está utilizando para pronosticar cuáles cruzas producirán híbridos sobresalientes. Actualmente, nuestro grupo colabora con fitomejoradores del INIFAP, y la Universidad Autónoma de Tamaulipas para incorporar el uso de marcadores moleculares en el mejoramiento de chile, soya y maíz de alta calidad proteínica.

Detección de patógenos

La biotecnología, a través de la caracterización molecular, se puede utilizar para proveer una identificación más rápida y exacta de patógenos y otros organismos. En fitopatología, el concepto de diagnóstico se refiere a la identificación de un agente que está causando una enfermedad. Sin embargo, en muchos casos se desea saber si el agente está presente, sin importar si la planta exhibe o no los síntomas. En este caso es mejor referirse a métodos de detección, mas que a métodos de diagnóstico. Los métodos basados en las propiedades del patógeno usan propiedades tales como su forma y dimensiones; el tipo, número y masa molecular de sus ácidos nucleicos y proteínas; estructura terciaria; la presencia de sitios antigénicos específicos; etc. Los procedimientos basados en las propiedades del patógeno, generalmente pueden ser automatizados, por lo que son muy convenientes para realizar programas de detección a gran

escala. Los métodos de detección más utilizados con virus y viroides son: a) Hibridación molecular; b) Electroforesis en geles de poliacrilamida; c) Electroforesis bi-direccional en geles de poliacrilamida d) Serología (ELISA) con antisueros monoclonales y policlonales (sólo para virus); e) Técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para bacterias se utilizan: a) Aislamiento e identificación; b) Métodos serológicos; c) Teñido de colonias por inmuno- fluorescencia; d) Hibridación molecular e) Técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para hongos los métodos preferidos incluyen: a) Caracterización morfológica y bioquímica después de aislamiento y cultivo b) Serología con anticuerpos monoclonales; c) Electroforesis para detectar componentes fungales específicos.

IV. El Futuro de la Biotecnología en el Mejoramiento de Cultivos

La segunda generación de transgénicos, la cuál estará disponible en los próximos cinco años, incluirá un repertorio más amplio de cultivos (tanto principales como secundarios) y la introducción de caracteres asociados a la calidad y valor nutricional. Además, existe un gran interés en utilizar plantas de cultivo para producir compuestos de valor terapéutico e industrial, tales como vacunas en papa y plásticos biodegradables en maíz.

La mejora continua de las tecnologías de marcadores moleculares va a lograr que el mejoramiento asistido por marcadores sea mas barato y efectivo, y por consiguiente se podrá utilizar con un espectro más amplio de especies; sin embargo, sería un error pensar que el uso de marcadores moleculares es “obligatorio” para poder alcanzar cualquier objetivo de mejoramiento genético.

Para lograr que la ingeniería genética logre convertirse en una herramienta efectiva, eficiente y confiable para el fitomejorador, en los próximos años la investigación deberá resolver problemas asociados con:

- a) La identificación de nuevas secuencias promotoras y estimuladoras de la expresión génica para lograr la sobreexpresión y la especificidad de la misma en los tejidos adecuados.
- b) El desarrollo de genes marcadores que no estén basados en la resistencia a antibióticos.
- c) El desarrollo de nuevos vectores (o de fácil eliminación en las variedades comerciales).
- d) Localización de fuentes de genes de resistencia y calidad del producto
- e) Efecto del ambiente en la expresión de transgenes, así como su estabilidad.

Además, y aún más importante, se deberá evaluar el uso de la biotecnología al menos en cuanto a:

- a) Riesgos para la salud humana
- b) Riesgos ambientales y ecológicos Impacto socioeconómico
- c) El establecimiento de un sistema regulador confiable de los productos biotecnológicos
- d) Implicaciones éticas
- e) Propiedad intelectual

V. Bibliografía Recomendada

- Agbios. <http://64.26.172.90/agbios/dbase.php>.
- Alvarez-Morales, A. 2000. México: ensuring environmental safety while benefiting from biotechnology. GJ Pearsley and MM Lantin, editors. Agricultural biotechnology and the poor: proceedings of an international conference, Washington, D.C. pp:90-96.
- Brears, T and J Ryals. 1994. Genetic engineering for disease resistance in plants. Agro-Food Industry Hi-Tech. Jul-Ago:10-13.
- Davies, HV. 2000. Advances in potato improvement through genetic engineering. *In*. Plant genetic engineering: Towards the third millenium. Arenciba, AD editor. Elsevier. Amsterdam. Pp: 1-6.
- Dreher, K; M Morris, M Khairallah, J-M Ribaut, S Pandey, G Srinivasan. 2000. Is marker-assisted selection cost effective compared to conventional plant breeding methods? The case of quality protein maize. Fourth Annual Conference of the International Consortium on Agricultural Biotechnology. The Economics of Agricultural Biotechnology. Ravelo, Italia.
- Gadani, F; D Ayers and W Hempfling. 1995. Tobacco: a tool for plant genetic engineering research and molecular farming. Part II. Agro-Food Industry Hi-Tech. Mar-Apr 13: 3-6.
- James, C. 2000. Global status of transgenic crops: challenges and opportunities. *In*. Plant genetic engineering: Towards the third millenium. Arenciba, AD editor. Elsevier. Amsterdam. Pp: 1-6.
- Jones, L (editor). 1991. Biotechnological innovations in crop improvement. Butterworth Heinemann. 289 p.
- Martin, GB; SH Brommonschenkel, J Chungwongse, A Frary, MW Ganai, R Spivey, T Wu, ED Earle, and SD Tanksley. 1993. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. *Science* 262:1432-1435.
- Osborn, TC; DC Alexander, and JF Fobes. 1987. Identification of restriction fragment length polymorphisms linked to genes controlling soluble solids content in tomato. *Theor. Appl. Genet.* 73:350-356.
- Persley, GJ and MM Lantin (editores). 2000. Agricultural biotechnology and the poor. Proceedings of an international conference on biotechnology. Washington, D.C. 235 p.
- Prince, JP; E. Pochard, and SD Tanksley. 1993. Construction of a molecular linkage map of pepper and a comparison of synteny with tomato. *Genome* 36: 404-417.
- Qaim, M 1998. Transgenic virus resistant potatoes in México: potentials socioeconomic implications of south-north biotechnology transfer. *ISAAA Briefs No. 7*. Ithaca, NY. 48 p.
- Rohde, W, C Jaage, B Paap, E Tacke, J Schmitz, M Kierdorf, A Ashoub, S Gunther, A van Bel, and D Prufer. 2000. Genetic engineering of potato for tolerance to biotic and abiotic stress. *In*. Plant genetic engineering: Towards the third millenium. Arenciba, AD editor. Elsevier. Amsterdam. Pp: 1-6.
- Van Raamsdonk, LWD. 2000. Biological aspects and ethical considerations for the utilization of GMOs. *In*. Plant genetic engineering: Towards the third millenium. Arenciba, AD editor. Elsevier. Amsterdam. Pp: 1-6.
- Watson, L and MJ Dallwitz. 1992. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. Version: 14th December 2000. <http://biodiversity.uno.edu/delta/>.