

# Protección cruzada por Ingeniería Genética

## Una nueva alternativa para el control de virus fitopatógenos

M. en C. Rafael Gutiérrez Campos

Después de la sequía, los virus son la causa más importante de pérdidas en la producción agrícola. En el mundo, se considera que hasta un 46% de las cosechas se pierden por problemas de virosis.

En la actualidad, se han desarrollado diversas estrategias para el control de los virus vegetales basados básicamente en la forma de transmisión de éstos. Así se han implementado métodos químicos, es decir, la utilización de pesticidas para la eliminación de vectores virales (principalmente insectos), y métodos físicos utilizando barreras (microtúneles y sistemas de acolchado) que impiden el contacto directo entre el vector y la planta hospedera.

En aquellos virus que se transmiten de manera mecánica (entran por heridas o aberturas naturales de la planta), o por vectores se han desarrollado programas de fitomejoramiento tradicional para generar plantas resistentes a virosis, a través de la transferencia de caracteres de resistencia de progenitores frecuentemente silvestres a plantas de interés comercial.

Todas estas estrategias de control preventivo, tienen limitantes como son la elevación de costos del cultivo y sobre todo problemas de contaminación. Además de la dificultad para transferir genes de resistencia, cuando se parte de progenitores poliploides, o cuando los caracteres de resistencia son multigénicos en el caso del mejoramiento genético.

En 1929, fue reportado un fenómeno al que se le llamó protección cruzada, en el cual una planta al ser inoculada con una variante atenuada de un virus, era protegida contra la infección producida por una variante agresiva relacionada con la variante atenuada.

Esta técnica, ha sido utilizada en todo el mundo con resultados alentadores, sin embargo, también este método presenta serios inconvenientes, primeramente, es posible que la variante atenuada (llamada virus inductor) pueda mutar convirtiéndose en una variante agresiva (llamada virus retador), asimismo, el inductor puede ser

inocuo para un determinado cultivo, pero puede llegar a destruir por completo cultivos relacionados, la principal dificultad de este método, es que la resistencia no es heredada a la progenie de las plantas protegidas lo que lo convierte en un procedimiento sumamente caro.

El mecanismo molecular de la protección cruzada sigue siendo obscuro,

aunque se ha involucrado a la proteína de la cápside viral del virus inductor como la responsable de la resistencia, es decir, durante la infección del virus inductor se sobrepresa la proteína de la cápside, así, al presentarse la variante retadora y desnudarse como primer paso de su replicación, es inmediatamente cubierto por la proteína de la cápside del virus atenuado. (Fig. 1).

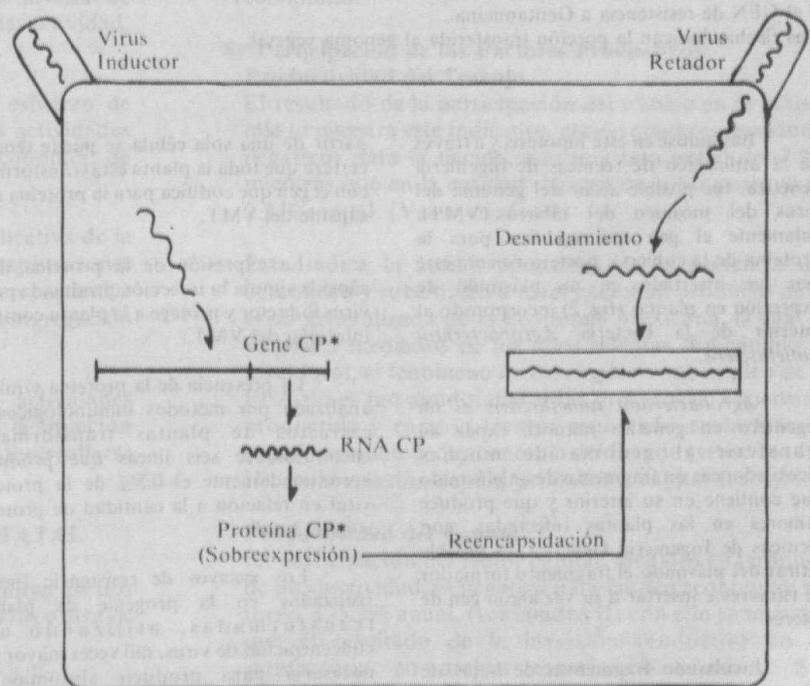


Fig. 1 Mecanismo Hipotético que involucra a la proteína de la cápside en el fenómeno de protección cruzada.

\* Proteína de la cápside.

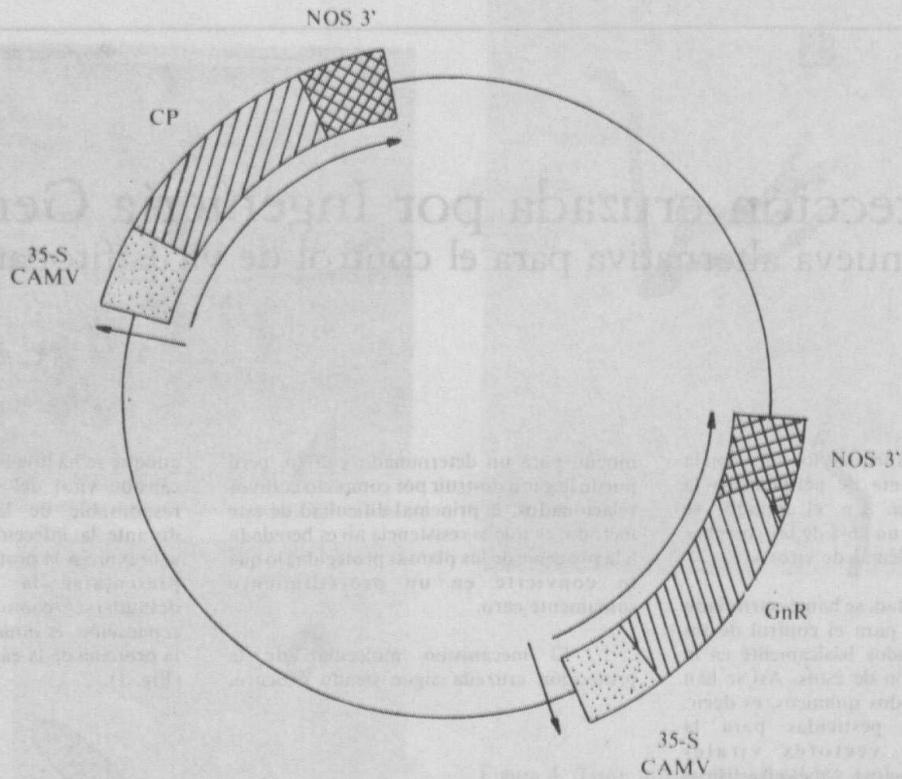


Fig. 2 Vector de expresión en plantas conteniendo el GEN de la proteína de la cápside (VWT) y el GEN de resistencia a Gentamicina. Las flechas indican la porción transferida al genoma vegetal.

Basándose en esta hipótesis y a través de la utilización de técnicas de ingeniería genética, fue posible aislar del genoma del virus del mosaico del tabaco (VMT), solamente el gen que codifica para la proteína de la cubierta, posteriormente este gen fue insertado en un plásmido de expresión en plantas (fig. 2) incorporado al interior de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*.

*Agrobacterium tumefaciens* es un ingeniero en genética natural, capaz de transferir al genoma de muchas dicotiledoneas un fragmento de un plásmido que contiene en su interior y que produce tumores en las plantas infectadas, con técnicas de Ingeniería Genética, es posible retirar del plásmido el fragmento formador de tumores e insertar a su vez algún gen de interés.

Incubando fragmentos de hojas de tabaco con la bacteria "construida" fue posible transferir al genoma vegetal el gen que codifica para la proteína de la cápside del VMT. Estos fragmentos de hoja colocados en un medio de cultivo adecuado pueden producir brotes adventicios (pequeñas plantas) y posteriormente estos brotes son escindidos y colocados en medios adecuados para producir raíces, regenerando así plantas completas. Puesto que cada brote adventicio es formado a

partir de una sola célula se puede tener la certeza que toda la planta está transformada con el gen que codifica para la proteína de la cápside del VMT.

La expresión de la proteína de la cápside simula la infección producida por el virus inductor y protege a la planta contra la infección del VMT.

La presencia de la proteína viral fue analizada por métodos inmunológicos en extractos de plantas transformadas encontrándose seis líneas que producen aproximadamente el 0.5% de la proteína viral en relación a la cantidad de proteína soluble total.

Los ensayos de resistencia fueron realizados en la progenie de plantas transformadas, utilizando una concentración de virus, mil veces mayor a la necesaria para producir síntomas en condiciones naturales. Las plantas control (no transformadas) mostraron síntomas cuatro días después de la inoculación, en tanto que las plantas transformadas, la infección se presentó hasta los cuarenta y cinco días y aún en algunas plantas los síntomas no se presentaron.

Este método molecular de protección cruzada puede ser una alternativa eficaz en el control de virus fitopatógenos.

En base a este trabajo realizado en el departamento de Ingeniería Genética del CINVESTAV- I.P.N. se desarrolla actualmente en el departamento de Química de la UAA un proyecto de desarrollo tecnológico para la generación de variedades comerciales de jitomate y tomate de cáscara con resistencia al VMT, en donde este virus puede causar daños de hasta un 60% anual en estos cultivos.