



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



**TRABAJO DE TITULACIÓN**

Componente práctico del Examen de Grado de carácter Complexivo,  
presentado al Consejo Directivo de la Facultad, como requisito previo  
para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**TEMA:**

“Importancia de la edición genética en cultivos de interés comercial,  
como alternativa para crear plantas más resistentes a plagas y  
enfermedades”.

**AUTOR:**

Miguel Ángel Mindiola Coello

**TUTOR:**

Walter Oswaldo Reyes Borja, PhD.

BABAHOYO - LOS RÍOS - ECUADOR

2021

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Douglas Mindiola y Mariana Coello, por brindarme su apoyo en cada etapa de mi vida y ser ejemplo de superación además de guía incondicional.

A mis tíos(as), Jenny Coello, Juan Coello, Rosa Mindiola, por acompañarme en este camino tan difícil, pero a la vez tan gratificante como son los estudios universitarios.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por haberme permitido llegar a este punto tan importante de mi vida y guiarme por el camino correcto.

A los catedráticos que me inculcaron muchos conocimientos y que gracias a ello soy un profesional con conocimientos y valores.

A mis compañeros por ser ejemplo de unión y respeto, además de ser muy buenos amigos que compartieron muchas experiencias y conocimientos.

## RESUMEN

El ADN es considerado como la molécula que contiene el material genético que puede ser heredado por una generación progenie. Está constituido por genes que influyen en las características de un individuo. La edición genética se considera la técnica fundamental para cambiar, agregar o desagregar segmentos de ADN modificando las cualidades de un organismo. La biotecnología al igual que el fitomejoramiento tradicional se enfocan esencialmente en la creación de plantas resistentes a plagas y enfermedades, y con esto aumentar los rendimientos de los cultivos, así como asegurar su calidad. La ingeniería genética está enfocada en producir genotipos que expresen cualidades de interés, mediante la integración en el genoma vegetal, de segmentos de ADN foráneo, que puede ser traído de cualquier origen. Para el desarrollo de este documento el estudio consistió en la investigación bibliográfica de diferentes bases teóricas y científicas manifestadas por varios autores (páginas web, material publicado, e-books, enciclopedias, periódicos, tesis, tesinas, papers, review, artículos y revistas) en referencia al tema de estudio, lo que permitió fundamentar los objetivos planteados. La información obtenida fue efectuada mediante la técnica de análisis, síntesis y resumen, con la finalidad de que el lector comprenda sobre la importancia de la edición genética como alternativa para crear plantas más resistentes a plagas y enfermedades con lo antes mencionado, corrobora que técnicas de edición genética son muy importantes ya que una correcta aplicación incurre en la creación de plantas resistentes a plagas y enfermedades, que con un manejo agronómico adecuado trae mejores rendimientos, calidad y por ende ingresos económicos.

**Palabras claves:** Molécula, progenie, edición, genética, genotipo.

## SUMMARY

DNA is considered as the molecule that contains the genetic material can be inherited by a progeny generation. It is made up of genes that influence the characteristics of an individual. Gene editing is considered the fundamental technique to change, add or disaggregate DNA segments by modifying the qualities of an organism. Biotechnology, like traditional plant breeding, is essentially focused on creating plants that are resistant to pests and diseases, thereby increasing crop yields as well as ensuring their quality. Genetic engineering is focused on producing genotypes that express qualities of interest, through integration in the plant genome, of foreign DNA segments, which can be brought from any origin. For the development of this document, the study will consist of bibliographic research of different theoretical and scientific bases expressed by various authors (web pages, published material, e-books, encyclopedias, newspapers, theses, papers, reviews, articles and magazines) in reference to the subject of study, which will allow to substantiate the proposed objectives. The information obtained was made through the analysis, synthesis and summary technique, in order for the reader to understand the importance of genetic editing as an alternative to create resistant to pests and diseases with the aforementioned we corroborate that editing techniques Genetics are very important since a correct application incurs in the creation of plants that are resistant to pests and diseases, which with adequate agronomic management brings us better yields, quality and therefore economic income.

**Keywords:** Molecule, progeny, editing, genetics, genotype.

## CONTENIDO

|  |    |
|--|----|
| <b>RESUMEN</b> .....   | iv |
| <b>SUMMARY</b> .....   | v  |
| <b>INTRODUCCIÓN</b> .....  | 1  |
| <b>CAPÍTULO I</b> .....  | 3  |
| <b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....  | 3  |
| 1.1. Definición del caso en estudio .....  | 3  |
| 1.2. Planteamiento del problema .....  | 3  |
| 1.3. Justificación.....  | 3  |
| 1.4. Objetivos .....   | 4  |
| <b>1.4.1. Objetivo general</b> .....   | 4  |
| <b>1.4.2. Objetivos específicos</b> .....  | 4  |
| 1.5. Fundamentación teórica .....  | 4  |
| <b>1.5.1. Importancia de la edición genética</b> .....                             | 4  |
| <b>1.5.2. El sistema CRISPR-Cas</b> .....  | 6  |
| <b>1.5.3. El sistema CRISPR-Cpf1</b> .....   | 9  |
| <b>1.5.4. Ingeniería genética en cultivos tolerantes a insectos o plagas</b> ..... | 10 |
| <b>1.5.5. Métodos más usados para insertar fragmentos de ADN en células</b> .....  | 11 |
| 1.6. Hipótesis .....   | 14 |
| 1.7. Modalidad de estudio. ....  | 14 |
| <b>CAPÍTULO II</b> .....   | 14 |
| <b>RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....  | 14 |
| 2.1. Desarrollo del caso.....  | 15 |
| 2.2. Situaciones detectadas hallazgos .....  | 15 |
| 2.3. Soluciones planteadas.....  | 15 |
| 2.4. Conclusiones .....  | 16 |
| 2.5. Recomendaciones .....   | 16 |
| <b>III. BIBLIOGRAFÍA</b> .....   | 17 |

## INTRODUCCIÓN

Las plantas cultivadas por el ser humano, interactúan con el medio y en la medida que se relacionan con este hábitat se manifiestan ventajas y desventajas, es decir que existirán algunos factores que promuevan su comportamiento y otros que inhiben su desarrollo natural; por lo tanto, estarán algunos factores limitantes que inhibirán el éxito de su comportamiento y requerirán medidas de manejo para que la actividad productiva cumpla su función. Entre dichos factores limitantes tenemos los abióticos (factores climáticos) y bióticos (malezas, insectos plaga, hongos fitopatógenos) (Proyecto UNICA “Universidad en el Campo” 2011).

Ha transcurrido bastante tiempo luchando con las viejas plagas y enfermedades, más las nuevas, sin que se consiga avanzar en gran medida, incluso en muchas ocasiones el agricultor siente que se está retrocediendo. En la guerra contra las plagas y enfermedades, los insecticidas y fungicidas químicos han sido usados como el principal método de control, porque parecían la opción más rápida y que actuaba sobre las poblaciones de insectos y hongos de una manera efectiva. Sin embargo, la mayoría de estos pesticidas no son selectivos y afectan junto con el insecto plaga y hongo que se quiere controlar a otros organismos, entre los cuales se encuentran los insectos parasitoides y depredadores de plagas, insectos polinizadores de los cultivos, así como también hongos entomopatógenos (Porcuna 2008).

La aplicación de las tecnologías de Ingeniería Genética, han permitido el desarrollo de plantas mejoradas y resistentes como una alternativa más precisa y efectiva. El término fitomejoramiento molecular, es utilizado para describir el uso de diversas herramientas para manipular el ADN de las plantas con el fin de introducir información génica con propósitos específicos; de este modo se han logrado resultados que en el pasado eran imposibles, como la transferencia de un gen deseado de una bacteria a una planta. A diferencia del mejoramiento genético convencional en donde las características deseables de una variedad se obtienen mediante la cruce entre individuos de la misma especie, la tecnología transgénica permite la incorporación de atributos provenientes de la misma u otra especie, sin necesidad de la reproducción sexual (Quiroz et al. 2012).

Desde que los seres humanos empezaron a cultivar la tierra, hace más de 10000 años, influyeron en la composición genética de las plantas mediante la cruce de diferentes variedades para seleccionar alguna de sus características positivas. Las técnicas utilizadas para mejorar los vegetales incluyen la selección de plantas, la cruce entre diferentes variedades y la manipulación de su material genético. Cuando se habla de edición genética se refiere a varias metodologías con las que se logra introducir cambios en el ADN mediante la generación de roturas de doble cadena (DSB) en las secuencias del genoma que se quiere modificar. La edición genética representa una herramienta poderosa para la investigación científica y la generación de conocimiento y tecnologías agrícolas; de ahí la importancia de apoyar su desarrollo. La combinación de todas las técnicas de mejoramiento genético, tradicionales y avanzadas, son necesarias para enfrentar los retos actuales de la agricultura y producir plantas resistentes a plagas y enfermedades (INCyTU 2018).

El CRISPR-CAS es un mecanismo de frente inmunidad aEl CRISPR-Cas es un mecanismo de inmunidad adaptativa propio de bacterias y arqueas que les proporciona una defensa frente a material genético invasor. El mecanismo funciona incorporando secuencias cortas del genoma de virus y otros elementos genéticos móviles en el locus CRISPR del huésped, que son transcritas y procesadas en pequeños RNAs que guían a las nucleasas para destruir el material genético invasor (Hryhorowicz et al. 2017).

El propósito del presente documento apunta a incentivar a los investigadores a tener en cuenta que la edición genética de cultivos es una disciplina importante para la creación de vegetales resistentes a plagas y enfermedades.



# CAPÍTULO I

## MARCO METODOLÓGICO

### 1.1. Definición del caso en estudio

El presente documento trata sobre la importancia de la edición genética como alternativa para crear plantas resistentes a plagas y enfermedades.

Una de las técnicas más importantes a nivel mundial es la edición genética que permite crear nuevas variedades de plantas, principalmente con objetivos de mejorarlas.

### 1.2. Planteamiento del problema

Las plagas y enfermedades se han convertido en la mayor causa de pérdidas de calidad y rendimientos de los cultivos de interés comercial, lo que nos hace buscar nuevas técnicas para crear plantas más resistentes y de allí la importancia de la edición genética.

El país, los centros de investigación y universidades no invierten mucha parte de sus recursos en investigaciones de este tipo y de allí el problema fundamental, ya que si se inyectara mucho más capital en investigaciones estaríamos compitiendo en tecnología e innovación con países desarrollados.

### 1.3. Justificación

La edición genética y sus técnicas son la mejor solución para crear plantas resistentes a plagas y enfermedades, ya que millones de familias dependen de la agricultura para su subsistencia.

Estas investigaciones son muy importantes ya que su aplicación conlleva a un proceso de mejoramiento genético y por ende nos lleva a mejorar la calidad de las plantas que son tratadas con estas técnicas.

Las viejas plagas y enfermedades se combinan con nuevas afecciones, lo que hace que cada día sea más ineficaz el uso de plaguicidas, esto justifica la aplicación de nuevas técnicas de ingeniería genética, ya que estas aumentarán la

resistencia de plagas y enfermedades y a su vez reducirán la aplicación de plaguicidas.

## **1.4. Objetivos**

### **1.4.1. Objetivo general**

- Conocer la importancia de la edición genética en cultivos de interés comercial, como alternativa para crear plantas más resistentes a plagas y enfermedades.

### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Describir las técnicas utilizadas por la edición genética para el mejoramiento de cultivos.
- Elaborar un documento informativo sobre la importancia de la edición genética en cultivos de interés comercial.

## **1.5. Fundamentación teórica**

### **1.5.1. Importancia de la edición genética**

según INCyTU (2018):

El ADN es la molécula que contiene el material genético que se hereda de una generación a otra. Está constituida por unidades de información o genes que determinan las características y el funcionamiento de los individuos. La edición genética es una técnica que permite cambiar, añadir o quitar segmentos de ADN para modificar de forma precisa su secuencia, cambiando así las características de un organismo. Existen tres principales técnicas de edición genética utilizadas en medicina. La más eficiente, fácil, barata y actualmente más utilizada es CRISPR-Cas9.

Sánchez (2019) expresa que:

La información sobre la secuencia de genes y genomas permitió el desarrollo de técnicas de modificación genética, las cuales han sufrido una revolución en las últimas décadas tras el desarrollo de métodos de edición genómica basados en cortes en el genoma dirigidos por las nucleasas de dedos de zinc (ZFN), por TALEN (Transcription activator-like effector nucleases), o por ARN, como ocurre con el sistema CRISPR/Cas (clustered regulatory interspaced short palindromic repeats/ CRISPR-associated protein), del cual trata esta revisión.

Herrera y Trujillo (2007) mencionan que:

Al igual que el fitomejoramiento tradicional, la biotecnología se ha enfocado principalmente a la búsqueda de incrementos en la producción y protección de cultivos agrícolas contra plagas y enfermedades. Sin embargo, los rápidos adelantos de las técnicas de biología molecular han ampliado los horizontes y en el futuro próximo la industria, el ambiente y la salud humana y animal, también se verán beneficiados por la aplicación de estas novedosas técnicas. Con ellas se intenta no sólo obtener variedades vegetales tolerantes a plagas, enfermedades y condiciones ambientales adversas que permitan mejorar los rendimientos, sino plantas capaces de producir insumos de alto valor económico y ambiental. La lista de productos susceptibles de obtenerse en plantas transgénicas incluye enzimas, alimentos con alto valor nutritivo, productos farmacéuticos, vacunas y plásticos biodegradables.

Vásquez (2018) Indica que:

“En la actualidad, los beneficios de la biotecnología incluyen resistencia a las enfermedades, reducción del uso de pesticidas, alimentos más nutritivos, tolerancia a los herbicidas, cultivos de crecimiento más rápido y mejoras en el sabor y la calidad”.

Quiñones et al. (2017) argumentan que:

Antes del advenimiento de la ingeniería genética, las metodologías de mejoramiento tradicional fueron aplicadas al desarrollo de plantas resistentes a hongos, bacterias y virus de cultivos importantes agrónomicamente. En

adición, técnicas estándares de fitopatología, que incluyen cuarentena, erradicación, rotación de cultivos y uso de semilla certificada libre de patógenos, que se han utilizado como herramientas de valor para el control de enfermedades.

Granados y Giraldo (2012): mencionan que:

La ingeniería genética de plantas está dirigida a la producción de genotipos que expresen características de interés, mediante la integración en el genoma vegetal, de segmentos de DNA foráneo, proveniente de cualquier origen. Este DNA altera las características de la planta, mediante la modificación dirigida y controlada de su genoma, al modificar, añadir o eliminar alguno o algunos de sus genes.

### **1.5.2. El sistema CRISPR-Cas**

Según Lima *et al.* (2018):

CRISPR/Cas9 ha sido considerado el descubrimiento biotecnológico del siglo. Las recientes publicaciones sobre la posibilidad de producir cambios permanentes en el ADN de gametos y embriones, cambios que al modificar la línea germinal pueden heredarse a través de las generaciones, ha renovado el interés por la reflexión ética en torno al impacto de las nuevas y no tan nuevas tecnologías.

Maidana *et al.* (2020) afirma que:

La función original de los sistemas CRISPR/Cas es destruir el DNA de virus bacterianos. Este sistema ha evolucionado para identificar y cortar secuencias de diferentes DNA de virus evitando la infección. La célula está compuesto de genes Cas que producen nucleasas guiadas por RNA capaces de cortar el DNA. Si el RNA guía encuentra DNA de un virus con el que se puede emparejar, recluta a la nucleasa Cas9 que lo corta. Este sistema es utilizado *in vitro* para editar genes basándose en la producción de rupturas de doble cadena y su posterior reparación. Actualmente existen varias

plataformas para el diseño de RNAs guía, aunque también es posible realizarlo de forma manual. Los componentes del sistema son entregados a la célula mediante un plásmido o una ribonucleoproteína. Esta revisión se centrará en la función original de CRISPR/Cas en procariontes y en cómo los investigadores la han modificado para proporcionar nuevas técnicas de edición de genomas. Se discute sobre las ventajas de esta nueva técnica, las formas en que podemos utilizarla y algunas de las limitaciones que aún se observan en su aplicación.

Para Hryhorowicz *et al.* (2017):

El CRISPR-Cas es un mecanismo de inmunidad adaptativa propio de bacterias y arqueas que le proporciona una defensa frente a material genético invasor. El mecanismo funciona incorporando secuencias cortas del genoma de virus y otros elementos genéticos móviles en el locus CRISPR del huésped, que son transcritas y procesadas en pequeños RNAs que guían a las nucleasas para destruir el material genético invasor.

Hryhorowicz *et al.* (2016) indica que:

El funcionamiento del CRISPR-Cas en estado natural como mecanismo de defensa se divide en tres pasos: adquisición de CRISPRs, biosíntesis del RNA guía e interferencia con el DNA invasor. En la etapa de adquisición, el material genético invasor es procesado por una nucleasa Cas y convertido en pequeños fragmentos de DNA, llamados secuencias protoespaciadoras, que posteriormente son incorporadas al locus CRISPR del genoma bacteriano para formar un nuevo espaciador. La selección de los protoespaciadores depende en parte del reconocimiento específico por parte de las nucleasas Cas de motivos adyacentes de protoespaciador (PAMs), que se encuentran presentes en el genoma viral, pero que no forman parte de los protoespaciadores incorporados al locus CRISPR. A continuación, en la etapa de biosíntesis, el locus CRISPR se transcribe y se sintetiza un RNA CRISPR precursor (pre-crRNA). El llamado crRNA trans-activador (tracrRNA)

hibrida con las repeticiones directas del pre-crRNA y una RNasa III endógena rompe la unión entre ambos RNAs y se producen los crRNAs maduros, cada uno de los cuales contiene una secuencia espaciadora y una repetición directa parcial. Por último, en la etapa de interferencia, el crRNA maduro guía a la nucleasa hacia la secuencia complementaria al espaciador del DNA invasor, desencadenando la degradación de dicha secuencia extraña.

Gayubas (2017) argumenta:

El aumento del número de publicaciones sobre edición de genomas en plantas mediante el sistema CRISPR-Cas9 es muy notable pero no es una novedad. Sin embargo, cada vez más investigadores están apostando por el nuevo sistema CRISPR-Cpf1, debido a sus ventajas frente al tradicional sistema CRISPR-Cas9.

Maidana *et al.* (2020) argumenta que:

Debido a su versatilidad, CRISPR/Cas9 se ha convertido en el método más popular de edición génica, triplicando en el 2015 la cantidad de publicaciones relacionadas en comparación a otras técnicas de edición génica como TALEN y ZNF (53). Aun así, se presentan aspectos que siguen siendo explorados y representan desafíos. Se avanza hacia la comprensión de los diferentes subtipos del sistema CRISPR/Cas y el uso de complejos efectores más pequeños (como el Cpf1). Por otro lado, la entrega de los componentes de CRISPR/Cas aún sigue siendo un desafío. En el caso específico de los vectores virales, preferidos debido a su baja inmunogenicidad, el gran tamaño de los efectores Cas dificulta su empaquetamiento dentro del vector. Existe un gran interés en desarrollar estrategias de entrega no virales para introducir los componentes de CRISPR/Cas en las células *in vivo*. Se han probado compuestos de nanopartículas lipídicas sólidas, lipofectamina, nanopartículas de oro y polímeros catiónicos como vehículos de entrega no viral de Cas9, y el sgRNA ha sido capaz de inactivar genes en forma eficiente *in vivo* en una variedad de tejidos. Las nanopartículas permiten tratamientos acumulativos repetitivos, por lo que, con un pequeño porcentaje de genes editados en cada

tratamiento, el efecto positivo total puede incrementar con el número de aplicaciones. Si bien esto parece promisorio, los vehículos de entrega de CRISPR/Cas9 por medio de nanopartículas necesitan ser optimizados con respecto a la biodegradabilidad y el acceso desde la corriente sanguínea hasta el tejido blanco. Se han observado avances significativos en los últimos años para mitigar los defectos asociados con los abordajes de entrega por virus, basados en mRNA, plásmidos y proteínas para el sistema CRISPR/Cas9. A pesar de ello, cada plataforma aún enfrenta diferentes barreras en la traducción. Sin embargo, los avances actuales han llevado al desarrollo de vehículos de entrega con capacidades sin precedentes, superando muchos obstáculos que alguna vez estuvieron escondidos en la capacidad traduccional de este sistema.

### **1.5.3. El sistema CRISPR-Cpf1**

Pardo (2017) menciona que:

El sistema CRISPR de *Prevotella* y *Francisella* 1 (Cpf1) se basa en una endonucleasa guiada por RNA que ha sido recientemente caracterizada y que difiere de Cas9 en numerosas de sus características. Estas diferencias en términos de estructura y función proveen a Cpf1 de importantes ventajas para su aplicación en edición de genomas. En primer lugar, los sistemas CRISPR-Cpf1 no requieren del tracrRNA para procesar el crRNA o para mediar la interferencia, si no que la Cpf1 procesa el crRNA independientemente de un tracrRNA y los complejos crRNA-Cpf1 no requieren de ningún otro RNA adicional para destruir el DNA diana. Además, el RNA guía de Cpf1 es más simple y corto (alrededor de 42 nucleótidos frente a los 100 nucleótidos de los RNA de sistemas basados en Cas9) y consiste en un solo bucle en la repetición directa. Esta puede que sea la característica más notable de Cpf1, ya que puede simplificar en gran medida el diseño y distribución de este tipo de tecnologías de edición genómica y; además, los oligonucleótidos más cortos de RNA son más fáciles y baratos de sintetizar.

### Plantas resistentes a Insectos y herbicidas.

| <i>Tipo de modificación genética</i> | <i>Productos agrícolas</i>           | <i>Millones has. sembradas (sup. cultivos trans.)</i> | <i>Porcentaje</i> | <i>Tasa de crecimiento</i> |
|--------------------------------------|--------------------------------------|---|-------------------|----------------------------|
| Resistencia a herbicida              | Soya, maíz, canola, algodón, alfalfa | 69.9  | 68%               | 10%                        |
| Resistencia a insectos               | Soya, maíz, canola, algodón, alfalfa | 19  | 19%               | 17%                        |
| Resistencia a herbicida e insectos   | Soya, maíz, canola, algodón, alfalfa | 13.1  | 13%               | 30%                        |

Fuente: James, (2006) y Rodríguez, (2007).

#### 1.5.4. Ingeniería genética en cultivos tolerantes a insectos o plagas

Quiroz-Chávez *et al.* (2012) mencionan que:

Los cultivos tolerantes a insectos son una de las aplicaciones más exitosas de la ingeniería genética en plantas; el algodón *Gossypium hirsutum* L. resistente a la larva de lepidóptera (orugas) y el Maíz (*Zea mays* L.) resistente a lepidópteras y coleópteras (gusanos de la raíz) han sido utilizados de forma extensiva en la agricultura, lo que ha permitido disminuir la utilización de pesticidas y reducción del costo de producción.

Según Carvajal *et al.* (2017):

La presencia de secuencias de maíz y soya en los alimentos fue confirmada mediante la amplificación de un fragmento de los genes endógenos de una proteína de la familia A del grupo de alta movilidad del maíz, y de la proteína lectina de la soya, mediante los cebadores hmgA y Le1, respectivamente. Se



determinó la presencia de secuencias derivadas de OGM en las muestras al ampliar una región de ADN del promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV) y del terminador del gen nopalina sintasa (t-Nos) de *Agrobacterium tumefaciens*, utilizados en la mayoría de los cultivos GM.

### **1.5.5. Métodos más usados para insertar fragmentos de ADN en células**

De Acuerdo a Quiroz-Chávez *et al.* (2012):

Entre los métodos más usados para introducir fragmentos de ADN dentro de una célula vegetal, están la biobalística y el uso de *Agrobacterium tumefaciens*. En el caso de la biobalística, ésta consiste en bombardear a las células que se desean transformar con partículas de metal cubiertas con las moléculas de los genes que se desea introducir dentro de la célula, el bombardeo se realiza a altas velocidades y presión, utilizando aire o helio comprimido. Los tejidos a transformar son fragmentos de hojas, tallos, raíz, meristemas o callos. Debido a la fuerza y presión que se ejerce en esta técnica muchas de las células mueren por el impacto mecánico, en el mejor de los casos las partículas metálicas que contiene el material genético penetran hasta el núcleo de la célula sin dañarlas, estas tienen la posibilidad de que el ADN exógeno se incorpore al material genético de la célula vegetal y sea transformada, para que esto suceda, es necesario que la molécula de ADN envuelta en la partícula de metal se disuelva en el núcleo para que las enzimas del sistema de reparación que se localizan en la célula realicen la inserción dentro del ADN propio de la célula. Entonces el material genético de la célula transformada consiste en ADN original de la célula (secuencias de millones de pares de bases) y ADN exógeno (normalmente de cientos a miles de pares de bases). Cabe mencionar que la inserción del fragmento de ADN exógeno puede darse en cualquier región del ADN (al azar), ya que la técnica no tiene control sobre el sitio de inserción.

El segundo método más usado, es por infección de una bacteria conocida como *Agrobacterium tumefaciens* que se encuentra de manera natural en el suelo y es responsable de causar la enfermedad conocida como agalla de la

corona en las plantas; esta bacteria introduce un fragmento de ADN, conocido como ADN de transferencia (T-DNA), foráneo en la célula vegetal que se incorpora al ADN genómico de la planta.

Gutiérrez et al. (2003) argumenta que:

Sistema natural de *Agrobacterium tumefaciens*: Es un método natural que utiliza dicha bacteria como vector biológico ya que posee un megaplásmido del que se transmite un fragmento denominado ADN-T (ADN transferido). En este ADN-T se colocan los genes deseados y mediante un cocultivo con las células candidatas a la transformación, se lleva a cabo la transferencia. El sistema de *Agrobacterium tumefaciens* es el que más éxito ha tenido, debido a que es posible transformar un gran número de especies de plantas dicotiledóneas, gimnospermas y muy pocas especies monocotiledóneas; así, mediante este sistema no ha sido posible obtener métodos de transformación genética rutinarios para el grupo de plantas más importantes para la alimentación humana y animal, que son los cereales. Ello ha conducido a la implementación de técnicas alternativas para conseguir dicho propósito.

Según Bravo (2019):

En la naturaleza, *Agrobacterium* puede no representar un peligro, pero para las personas que trabajan con grandes concentraciones de esta bacteria, por ejemplo, investigadores en laboratorios o ciertos trabajadores agrícolas que están en contacto con plantas altamente infectadas, puede ser prudente el ser cuidadoso o por lo menos deben estar advertidos.

Ceccarelli (s. f.) menciona que;

Una metodología inventada en 1985 merece destacarse. Utilizando ADN polimerasa, una enzima que normalmente tiene la capacidad de duplicar el material genético en los organismos vivos, se pueden generar in vitro millones de copias de una determinada región de ADN, sin la necesidad del "clonado". Este método, conocido como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por su nombre en inglés) constituye la técnica actual más

poderosa para "copiar" genes. Ambas hebras del ADN blanco son duplicadas o replicadas mediante una ADN polimerasa termoestable que inicia la síntesis de cada hebra a partir de dos pequeños fragmentos de ADN, llamados cebadores o iniciadores, que se aparean a una región complementaria específica del ADN a amplificar. Esta síntesis se repite varias veces en forma cíclica, mediante calentamientos y enfriamientos que separan las hebras de ADN y los cebadores, permitiendo realizar nuevamente una copia por ciclo de todo el material proveniente del ciclo anterior. Se logra así una amplificación exponencial del ADN comprendido entre los sitios de apareamiento de ambos cebadores. Esta técnica amplifica fragmentos de ADN que comprenden una longitud que puede variar entre 100 y 10.000 pares de bases, permitiendo obtener en pocas horas hasta mil millones de copias. No es necesario conocer la secuencia del ADN molde, sólo es necesario conocer sus regiones laterales, a las que se aparean los cebadores.

Rabinow, (2011) y Juarez (2017) afirman que:

“La PCR, es una técnica desarrollada por Kary B. Mullis, quien ganó el premio nobel en 1993 por este invento”.

Erlich (2015) y Juarez (2017) mencionan que “Esta técnica consiste en la selección de una zona específica del genoma, que puede ser un gen, para generar miles de copias de este a partir de la inducción artificial del proceso de replicación del ADN”.

Según Kennedy (2011), Erlich (2015), Juarez (2017):

Las etapas de la PCR son: la desnaturalización, que abre la cadena de ADN, el alineamiento, que sirve para pegar los cebadores específicos a la zona blanco de la cadena y que servirá como sitio de inicio para la polimerasa, y la extensión, que implica la replicación de la secuencia blanco por parte de la polimerasa.

Robles-Hernández et al. (2010) Afirma que:

Con la técnica de PCR se obtiene un gran número de copias a partir de un fragmento de ADN. Esta técnica se emplea para la identificación de virus, bacterias, personas, etc. Se fundamenta en la propiedad de las ADN polimerasas para replicar hebras de ADN. Se emplean ciclos de altas y bajas temperaturas alternadas para separar las hebras de ADN recién formadas entre sí, tras cada fase de replicación. Después, se unen a polimerasas para que vuelvan a duplicarse. Las ADN polimerasas termoestables utilizadas, son extraídas de microorganismos adaptados a vivir altas temperaturas. El proceso de la PCR está automatizado mediante un termociclador, el cual permite calentar y enfriar los tubos de reacción para cada etapa.

### **1.6. Hipótesis**

Ho= No es de vital importancia utilizar técnicas de edición genética para crear plantas resistentes a plagas y enfermedades.

Ha= Es de vital importancia utilizar técnicas de edición genética para crear plantas resistentes a plagas y enfermedades.

### **1.7. Modalidad de estudio.**

La modalidad del estudio consistió en la investigación bibliográfica de diferentes bases teóricas y científicas manifestadas por varios autores (páginas web, material publicado, e-books, enciclopedias, periódicos, tesis, tesinas, papers, review, artículos y revistas) en referencia al tema de estudio, lo que permite fundamentar los objetivos planteados.

## **CAPÍTULO II**

### **RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN**

## **2.1. Desarrollo del caso**

La finalidad de este documento se recolecta información acerca de la importancia de la edición genética en plantas, como alternativa para crear organismos resistentes a plagas y enfermedades.

Las técnicas de edición genética son consideradas importantes en la ingeniería genética, también es indispensable para el mejoramiento vegetal.

## **2.2. Situaciones detectadas hallazgos**

Las plagas y enfermedades son una causa fundamental de pérdidas en el rendimiento y calidad de los cultivos, además de ser un factor que incrementa el costo de producción.

La mayoría de los países en desarrollo, centros de investigación, universidades, institutos tecnológicos, entre otros no realizan inversiones en ingeniería genética suficiente para estar a la vanguardia con países desarrollados.

## **2.3. Soluciones planteadas**

Es de vital importancia dar a conocer estas herramientas de ingeniería genética y aplicarlas en beneficio de los demás, la técnica de edición genética es un claro ejemplo que se puede mejorar mediante el uso de la biotecnología.

La edición genética puede crear plantas resistentes a plagas y enfermedades lo que es de gran beneficio porque mejorar la calidad y el rendimiento de la producción.

## **2.4. Conclusiones**

Por lo antes mencionado se concluye:

Las técnicas de edición genética son muy importantes, ya que una correcta aplicación incurre en la creación de plantas resistentes a plagas y enfermedades, que con un manejo agronómico adecuado trae mejores rendimientos, calidad y por ende ingresos económicos.

Al tener plantas resistentes a plagas y enfermedades se reducirá el uso de agrotóxicos, lo que es muy beneficioso tanto para las personas como para la fauna y flora de nuestros ecosistemas; además de mejorar las condiciones de vida de agricultores favoreciendo su subsistencia.

## **2.5. Recomendaciones**

Según lo antes mencionado se recomienda:

Hacer un llamado a los centros de investigaciones de todo el país para que realicen estas técnicas en beneficio de nuestros productores y así estar a la vanguardia con países desarrollados tecnológicamente hablando.

Aplicar las técnicas de edición genética para la creación de plantas resistentes a plagas y enfermedades y con ello mejorar las condiciones de productivas de nuestro país.

### III. BIBLIOGRAFÍA

- INCyTU. 2018. Edición genética en agricultura. s.l., Foro Consultivo, Científico y Tecnológico, AC.
- Porcuna, J. 2008. Manejo de plagas y enfermedades en producción ecológica. s.l., Junta de Andalucía - Sociedad Española de Agricultura Ecológica.
- Proyecto UNICA “Universidad en el Campo”. 2011. Técnicas para el desarrollo sostenible. s.l., Espacio Gráfico Comunicaciones S.A.
- Quiroz, J; García, L; Quiroz, F. 2012. Mejoramiento vegetal usando genes con funciones conocidas. Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable 8(3):79-92.
- Hryhorowicz, M; Lipiński, D; Zeyland, J; Słomski, R. 2017. Sistema inmunitario CRISPR/Cas9 como herramienta para la ingeniería del genoma. Archivum immunologiae et therapiae experimentalis 65(3):233-240.
- Sánchez, EV. 2019. SISTEMA CRISPR/Cas9 y su aplicación a la edición dirigida de genomas. :52.
- Herrera-Estrella, L; Trujillo, MM. 2007. Plantas transgénicas. Fundamentos y casos exitosos de la biotecnología moderna, 167-193.
- Vásquez, G. 2018. Biotecnología: generalidades, riegos y beneficios.

- Quiñones, M; Vega, A; Martínez, Y; Rodríguez, E. 2017. Estrategias de ingeniería genética para la obtención de plantas transgénicas resistentes a geminivirus. Experiencia del Censa. La Habana. Rev. Protección Veg, 22(2).
- Díaz Granados, C; Chaparro-Giraldo, A 2012. Métodos de transformación GENÉTICA DE plantas. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica 15(1):49 – 61.
- Lima, NS; Martínez, AG; Soberón, MV; Isabel, M; Plaza, C. 2018. Perspectivas de la edición genética (CRISPR/Cas9). 33(4):33-37.
- Maidana, RR; Ferreira, AM; Candia, NB; Pereira, EN; Ríos, DF. 2020. Sistema CRISPR/Cas: Edición genómica de precisión (en línea). Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud 18(1). Consultado 10 abr. 2021. Disponible en <http://archivo.bc.una.py/index.php/RIIC/article/view/1670>.
- Hryhorowicz, M; Lipiński, D; Zeyland, J; Słomski, R. 2017. El sistema inmunológico CRISPR / Cas9 como herramienta para la ingeniería del genoma. Archivum immunologiae et therapiae experimentalis 65 (3): 233-240.
- Gayubas Balaguer, B. 2017. Expresión en plantas de un sistema de edición genómica CRISPR mediante vectores virales. Doctoral dissertation. Valencia, Universidad Politécnica de Valencia. 40 p.
- Pardo, PM. (2017). Descripción del sistema CRISPR-Cas y diseño de sgRNAs ("single guide RNAs") para edición de ADN genómico en levaduras.
- Carvajal, P; Ureña, H; Umaña, J; Sancho, C; Solano, F; Arleo, M; Umaña, R. 2017. Detección molecular de secuencias de ADN transgénico en alimentos de consumo humano y animal en Costa Rica. Agronomía Costarricense, 41(1): 53-68.



- Quiroz-Chávez, J; García-Pérez, LM; Quiroz-Figueroa, FR. 2012. Mejoramiento vegetal usando genes con funciones conocidas. *Ra Ximhai*, 8(3): 79-92.
- Gutiérrez, A; Santacruz, F; Cabrera, JL; Rodríguez, B. 2003 Mejoramiento genético vegetal in vitro: (en línea). e-Gnosis. Universidad de Guadalajara Guadalajara, México Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=73000104>
- Bravo, E. 2019. CULTIVOS TRANSGÉNICOS Y DERECHOS DE LA NATURALEZA. :88.
- Ceccarelli, DEA. s. f. Introducción. Una tecnología con futuro ya entre nosotros | La tecnología del ADN recombinante | Sobre híbridos, transgénicos y clones | Biotecnología y transgénicos. ¿Por qué modificar un organismo? | ¿Cómo se obtienen. :16.
- Juárez Campusano, YS. (2017). Detección de *Botrytis cinerea* mediante PCR en cultivos de vid y evaluación del biocontrol con *Bacillus subtilis* Q11. Tesis Lic. Ciudad de Santiago de Querétaro, Querétaro, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO. 98p.
- Robles-Hernández, L; Gómez-Franco, AC; Gill-Langarica, EM; Pérez-Moreno, L; López-Díaz, JC. 2010. Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección: (en línea). TECNOCIENCIA Chihuahua 4(2):72-86. Consultado 20 abr. 2021. Disponible en <https://vocero.uach.mx/index.php/tecnociencia/article/view/715>.
- Rodríguez, P; González, O. 2007. Plantas transgénicas: una revisión de los principales cultivos básicos en México. *e-Gnosis*. :(5). 1.