

GUIA DE LABORATORIO

BIOTECNOLOGÍA DE PLANTAS

Autora: Martha Lucia Ruiz Benitez

Programa académico: Química y Farmacia

Agosto 2020

Universidad Simón Bolívar



1. INTRODUCCIÓN

La biotecnología vegetal es el conjunto de técnicas que utilizan plantas o sus partes para obtener productos modificados, para mejorar sus propiedades farmacéuticas. Se encarga de desarrollar diversas variedades de rasgos en los cultivos y en las plantas y estudiar genes que conforman a una planta, y las características que les proporcionan.

La biotecnología comprende diversos conocimientos como la agricultura, bioquímica, fisiología vegetal, biología molecular, virología e inmunología. Una de las ventajas de los cultivos *in vitro* y el cultivo de células y tejidos es la obtención de un gran número de individuos en poco tiempo, generación de clones, plantas libres de patógenos y de cualquier tipo de virus y el favorecimiento del mejoramiento genético y fitoquímico, y como desventajas es que se necesitan de personal especializado y algunos productos químicos son de elevado costo.

2. OBJETIVOS

- ❖ Conocer la aplicabilidad de la biotecnología de plantas medicinales
- ❖ Conocer el fundamento del ADN recombinante

3. MATERIALES Y EQUIPOS

- ❖ Placas de Petri
- ❖ Medios de cultivo
- ❖ Pinzas
- ❖ Tubos de ensayo
- ❖ Matraz aforado
- ❖ Balanza
- ❖ Espátula
- ❖ Autoclave
- ❖ Microscopio
- ❖ Vórtex
- ❖ Estereoscopio
- ❖ Incubadora

4. FUNDAMENTO

La fitoquímica consiste en analizar los compuestos presentes en distintas especies de plantas para la identificación de las propiedades farmacológicas y la biotecnología en plantas consiste en la introducción de información genética nueva en un organismo para dotarlo de capacidades que no poseía para su posterior reproducción, obteniendo individuos modificados y dotados para ese uso o función. Las técnicas principales usadas son: Secuenciación de ADN, ADN recombinante y Reacción en cadena de la polimerasa.

En relación con la micropropagación de plantas, su función principal es multiplicar masivamente una especie que esté en peligro de extinción en donde se obtiene una nueva planta a partir de una planta madre, después se obtiene el explante, cultivo de la planta *in vitro* y obtención de semillas y plántulas (clones). Por otro lado, el ADN recombinante es una de las técnicas mayormente usadas en biotecnología en donde se permiten la manipulación y la transferencia de genes de un organismo a otro. De este modo se obtienen organismos genéticamente modificados en donde hace referencia a la inserción de algún gen, conocido como transgén, procedente de otro organismo y así se puede mejorar las condiciones como por ejemplo: el tomate con más aroma (debido al s-linalol), aumento de β carotenos (precursor de la provitamina A) en el arroz (Golden Rice), presencia de antioxidantes, modificación genéticamente el color de las flores para ornamentación.



Figura 1. Aplicación de la biotecnología vegetal

Fuente de imagen: Tomasz Kowalczyk. Transgenesis as a Tool for the Efficient Production of Selected Secondary Metabolites from Plant in Vitro Cultures. *Plants* 2020, 9(2), 132.



5. PROCEDIMIENTO

El protocolo para la realización de un cultivo celular vegetal de acuerdo con las metodologías implementadas por Perea M (2009) y Ren (2016):

-Inicialmente la composición de los medios de cultivo deben estar constituidos con macronutrientes y micronutrientes como vitaminas azúcares, aminoácidos, gelificantes, entre otros. Seguidamente se muestra una preparación de un medio de cultivo celular vegetal:

- ✓ Medio basal MS (Murashige e Skoog, 1962)
- ✓ 2mg 6-BA (6-benzyladine) 1 mg/L 2,4 D (Ácido Diclorophenoxyacético) 60g/L Sacarosa
- ✓ 3 g/L Phytigel, pH= 5,8

-Para el cultivo de meristemas éstos deben obtenerse inicialmente de un explante entre 0.05mm a 0.2mm de diámetro

-Posteriormente es realizada la siembra en el medio de cultivo en condiciones asépticas.

-Dependiendo de las características que se quieran obtener de las plantas de deben usar hormonas que regulen el crecimiento ya sea inhibiéndola o promoviéndola. Es estos casos, es importante conocer cuando implementar en los cultivos celulares la auxina y la citocinina.

Ausencia de citocinina	—————>	no división celular
auxina > citocinina	—————>	formación de raíces
auxina < citocinina	—————>	formación de parte aérea

-Finalmente es realizada la transferencia de las plantas obtenidas *in vitro* y su adaptación a condiciones ambientales



Figura 2. Formación de callo friable a partir de brotes de melón utilizando 2mg/L de BAP (Tirado, 2001).



6. BIBLIOGRAFÍA

- Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. Archivos latinoamericanos de Nutrición (ALAN).2011.
- Chen F., Tholl D., Bohlmann J., Pichersky E. The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. *The Plant Journal*. 66: 212-229. 2011.
- Ewind G., Hall M. and Klerk D. Plant Propagation by tissue culture Volume 1. Ed. Klerk. 2008.
- Perea Dallos Margarita. Manual Cultivo de Tejidos Vegetales *In Vitro*. vi, 284 p.:3 il. ISBN 958-701-372-7 QA241. Universidad Nacional de Colombia. 2009.
- Ren C, Liu X, Zhang Z, Wang Y, Duan W, Li S, Liang Z. CRISPR/Cas9-mediated efficient targeted mutagenesis in Chardonnay (*Vitis vinifera* L.). *Sci Rep*. 2016 Aug 31;6:32289. doi: 10.1038/srep32289. PMID: 27576893; PMCID: PMC5006071.
- Tirado, A., Potencial morfogénico de Cucumis melo L. var. Cantaloupe. Trabajo de grado: bióloga. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Bogotá, 2001.
- Tomasz Kowalczyk. Transgenesis as a Tool for the Efficient Production of Selected Secondary Metabolites from Plant in Vitro Cultures. *Plants* 2020, 9(2), 132.

PREGUNTAS

1. Explique en que consiste la secuenciación de ADN
2. ¿Explique que es ADN recombinante?
3. ¿Qué fármacos han sido obtenidos por biotecnología?
4. Cómo aplicaría la biotecnología vegetal en el área de Química farmacéutica?