

ISSN 1669-6859

# *Dominguezia*

Museo de Farmacobotánica  
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Universidad de Buenos Aires



*Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. (Clavicipitaceae)

Dominguezia Vol. 36(2) - Diciembre de 2020  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires - República Argentina



# *Dominguezia*

Vol. 36(2) - 2020

**Director Responsable:**

Dr. Marcelo Luis Wagner

**Comisión Redactora:**

Dr. Arnaldo L. Bandoni  
Dr. Alberto A. Gurni  
Dr. Marcelo L. Wagner

**Comisión Científica Asesora:**

Dr. Pastor Arenas (Instituto de Botánica Darwinion, Argentina)  
Dr. Néstor Caffini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)  
Dra. María T. Camargo (Universidad de San Pablo, Brasil)  
Dr. Rodolfo Campos (Universidad de Buenos Aires, Argentina)  
Dr. Salvador Cañigueral Folcará (Universidad de Barcelona, España)  
Dr. Eduardo Dellacassa Beltrame (Universidad de la República, Uruguay)  
Dra. Martha Gattuso (Universidad Nacional de Rosario, Argentina)  
Dr. Héctor Alejandro Keller (Universidad Nacional del Nordeste, Argentina)  
Dr. José Luis López (Universidad de Buenos Aires, Argentina)  
Dr. José María Prieto-García (University of London, Gran Bretaña)  
Dr. Lionel G. Robineau (Universidad de las Antillas y de la Guyana)  
Dr. Carlos Taira (Universidad de Buenos Aires, Argentina)  
Dra. Edda C. Villaamil (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

**Comisión Científica Honoraria:**

Dr. Ramón A. de Torres (Universidad de Buenos Aires, Argentina)  
Dra. Marta Nájera (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)  
Dr. Otmaro Rosés (Universidad de Buenos Aires, Argentina)  
Dra. María L. Tomaro (Universidad de Buenos Aires, Argentina)  
Dra. Etile Spegazzini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

**Editores Científicos:**

Dr. Ignacio J. Agudelo  
Dra. Graciela B. Bassols  
Dra. Cecilia B. Dobrecky  
Dr. José María Prieto-García  
Dr. Rafael A. Ricco  
Dra. Catalina M. van Baren  
Dra. Beatriz G. Varela

**Secretaría, Edición Electrónica y Webmaster:**

Fernando Gabriel Ranea

Edición financiada por  
el **Museo de Farmacobotánica “Juan Aníbal Domínguez”** y la **Cátedra de Farmacobotánica**,  
Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires

*Dominguezia* se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines.

This publication is sent to individuals or institutions by exchange with similar ones, devoted to  
Pharmaceutical Botany, Pharmacobotany or related subjects.

Lámina de Tapa:

*Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. (Clavicipitaceae)

*Modelo Robert Brendel (Procedencia, Berlín. Número de Catálogo, 10g. 1. Nombre, Sclerotium mit Stromata)*

Incluida en el Directorio de LATINDEX por el Centro Argentino de Información  
Científica y Tecnológica (CAICYT - CONICET) con el número de Folio 2787 *Dominguezia*,  
y en SISBI, BVS MTCI Americas, CABI, LIS, UBL, PKP Index, Electronic Sites of Leading Botany,  
Plant Biology and Science Journals.  
Providing links to the world's electronic journals.

Registro de la Propiedad Intelectual N° 5353064.

Se terminó de editar en diciembre de 2020.

## Índice de contenido

Los sistemas vegetales como plataformas de producción de proteínas de interés para la industria farmacéutica María Alejandra Álvarez	5
Características y contenido de extractivos del leño de <i>Discaria chacaye</i> y <i>Ochetophila trinervis</i> (Rhamnaceae) de zonas de ecotono del suroeste de la provincia de Neuquén Andrea Alejandra Medina, Antonela Pampiglioni, Evelyn Riquelme	23
Artefactos, saberes y prácticas científico-educativas de la farmacobotánica argentina (siglo XIX y XX) Nuevas miradas sobre las colecciones históricas del Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez” de la Universidad de Buenos Aires Gabriela Mayoni	31
Nuestra edición y traducción de las Observaciones Fitológicas sobre algunas plantas exóticas introducidas en Roma de Gaspar Juárez y Filippo Gili (1789, 1790, 1792) José Luis Narvaja S. J., Miguel de Asúa	47

## Index

Plant platforms for producing recombinant proteins for the pharmaceutical industry .....	5
María Alejandra Álvarez	
Characteristics and wood extract contents of .....	23
<i>Discaria chacaye</i> and <i>Ochetophila trinervis</i> (Rhamnaceae)	
from ecotonal areas of southwest Neuquen province	
Andrea Alejandra Medina, Antonela Pampiglioni, Evelyn Riquelme	
Artifacts, knowledge and scientific-educational practices of .....	31
Argentinean Pharmacobotany (19 <sup>th</sup> and 20 <sup>th</sup> centuries)	
New perspectives on the historical collections of the	
Pharmacobotanical Museum “Juan A. Domínguez” of the University of Buenos Aires	
Gabriela Mayoni	
Our edition and translation of Gaspar Juárez and Filippo Gili, <i>Observaciones</i> .....	47
<i>Fitológicas sobre algunas plantas exóticas introducidas en Roma (1789, 1790, 1792)</i>	
José Luis Narvaja S. J., Miguel de Asúa	

# Los sistemas vegetales como plataformas de producción de proteínas de interés para la industria farmacéutica

María Alejandra Álvarez

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Universidad Maimónides, CEBBAD - Carreras de Farmacia y Bioquímica, Hidalgo 775 piso 6º, Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia: [alvarez.mariaalejandra@maimonides.edu](mailto:alvarez.mariaalejandra@maimonides.edu)

## Resumen

La biotecnología vegetal logró armonizar los nuevos desarrollos relacionados con los sistemas productivos vegetales con la necesidad de proteínas recombinantes de la industria farmacéutica. La plataforma vegetal resultó una alternativa válida de producción principalmente por poseer la maquinaria adecuada para la síntesis proteica, incluyendo glicoproteínas y proteínas multiméricas. Dentro de las ventajas de estos sistemas se encuentran: la bioseguridad, pues no hay posibilidad de contaminación con patógenos, priones, oncogenes o endotoxinas; la facilidad de escalado, en el caso de los cultivos a campo, pues se realiza con bajos incrementos en costos; el desarrollo del proceso productivo en condiciones ambientales controladas, en el caso de los cultivos *in vitro*, pudiendo trabajarse en condiciones de Buenas Prácticas de Laboratorio y Buenas Prácticas de Manufactura y en el caso de la expresión transitoria, la rápida producción de proteínas terapéuticas. Una de las limitaciones de las proteínas producidas en vegetales es la diferencia en cuanto a la glicosilación respecto a las de origen animal. Esto ha logrado solucionarse mediante la inactivación de glicosiltransferasas específicas de plantas o su complementación con glicosiltransferasas animales heterólogas. Otra de las limitaciones para la explotación comercial de la producción de proteínas en plantas son sus bajos rendimientos. No obstante, se han desarrollado estrategias a nivel genético, del mecanismo de expresión (estable o transitoria), de las condiciones y del sistema de cultivo para incrementarlos. Así es como mediante transformación estable o transitoria de diferentes especies se ha logrado producir una amplia gama de proteínas recombinantes en cultivos agronómicos o cultivos *in vitro*. Proteínas funcionales de origen animal tales como anticuerpos, antígenos vacunales, citoquinas, hormonas de crecimiento, enzimas, biopolímeros y otras proteínas industriales han sido expresadas en especies tan diversas como *Nicotiana tabacum*, *N. benthamiana*, *Daucus carota*, *Lactuca sativa*, *Lycopersicon esculentum*, *Solanum tuberosum*, *Oryza sativa*, *Zea mays*, *Glycine max*, entre otras.

## Plant platforms for producing recombinant proteins for the pharmaceutical industry

### Summary

Plant biotechnology succeeded in combining new developments related to plant production systems with the need for recombinant proteins in the pharmaceutical industry. The plant platform turned out to be a valid production alternative mainly because it had adequate machinery for protein synthesis, including glycoproteins and multimeric proteins. Among the advantages of these systems are: biosafety, since there is no possibility of contamination with pathogens, prions, oncogenes or endotoxins; the ease of scaling up, in the case of field crops, as it is done with low cost increases; the development of the production process under controlled environmental conditions, in the case of *in vitro* cultures, being able to work under conditions of Good Laboratory Practices and Good Manufacturing Practices and the transitory expression, in the case of production of therapeutic proteins, which is done very quickly. One of the limitations of proteins produced in vegetables is the difference in glycosylation with respect to those of animal origin. This has been solved by the inactivation of plant-specific glycosyltransferases and/or their complementation with heterologous animal glycosyltransferases. Another limitation of the commercial exploitation of protein production in plants is its low yields. However, strategies have been developed at the genetic level, the expression mechanism (stable or transient), the culture conditions, and the culture system to increase them. This is how, through a stable or transient transformation of different species, a wide range of recombinant proteins has been produced in agronomic or *in vitro* cultures. Functional proteins of animal origin such as antibodies, antigens, cytokines, growth hormones, enzymes, biopolymers, and other industrial proteins have been expressed in species as diverse as *Nicotiana tabacum*, *N. benthamiana*, *Daucus carota*, *Lactuca sativa*, *Lycopersicon esculentum*, *Solanum tuberosum*, *Oryza sativa*, *Zea mays*, *Glycine max*, among others.

**Palabras clave:** proteínas recombinantes - cosecha molecular - biofarmacéutica - proteínas expresadas en plantas.

**Key words:** recombinant protein - molecular farming - biopharming - plant-made proteins.

## Introducción

Las plantas sintetizan y acumulan una enorme cantidad de productos naturales de interés para la industria alimentaria, farmacéutica, textil, química, cosmética y perfumería, entre otras. En las últimas décadas, a estos compuestos se sumó la posibilidad de producir proteínas recombinantes en sistemas vegetales mediante la introducción de genes provenientes de otros reinos. Las proteínas recombinantes son proteínas foráneas expresadas en sistemas hospedantes utilizando herramientas de la ingeniería genética y son producidas en escala comercial mediante fermentaciones microbianas o cultivo de células animales. A estas plataformas tradicionales iniciales se sumaron luego otras plataformas alternativas tales como los cultivos de levaduras, de células de insectos, de células y órganos vegetales y los animales y plantas transgénicos. La elección entre una u otra plataforma se realiza en base a factores tales como la aplicación que tendrá de dicha proteína (en terapéutica, como reactivo de laboratorio y de diagnóstico, para la administración parenteral o uso externo, entre otros), la necesidad de modificaciones post-traducción específicas de las células animales para conservar la funcionalidad de la proteína, el costo del escalado para cubrir la demanda, las necesidades de purificación del producto final, entre otras. Este artículo será una breve sinopsis sobre la producción de proteínas recombinantes de interés para la industria farmacéutica en plataformas vegetales, incluyendo las plantas transgénicas cultivadas en condiciones confinadas o a campo y cultivos *in vitro* de células y órganos vegetales.

## La plataforma vegetal y la industria farmacéutica

La industria farmacéutica requiere de proteínas recombinantes en cantidades tales que se dificulta cubrir con dicha demanda, particularmente frente a las necesidades abruptas de estas proteínas, como ocurre en el caso de las epidemias. La demanda creciente de estos agentes terapéuticos proyectada hacia el futuro cercano vaticina la saturación de los sistemas actuales de producción, lo que implica que dichos sistemas resultarán insuficientes. Las plataformas alternativas, tales como cultivos de células de insectos, animales transgénicos y sistemas vegetales, aparecen entonces como complementarias a las tradicionales. La elección de la plataforma productiva depende de varios factores, entre ellos las características de la proteína que se desea producir, las necesidades del mercado y los costos de producción. Cada una de estas plataformas presenta ventajas y desventajas relacionadas principalmente con el tiempo de producción, los costos operativos, el rendimiento de proteína, la contaminación con patógenos, la necesidad de modificaciones post-traducción y el marco regulatorio (Tabla 1). En el caso de las células animales éstas producen en general proteínas idénticas a las requeridas,

pero tienen el riesgo de contaminación con priones, patógenos u oncogenes, que hace que se requieran de etapas de purificación que incrementan los costos. Por otra parte, las bacterias, que se caracterizan por sus altos rendimientos de proteínas recombinantes sencillas, no pueden llevar a cabo los complejos procesos post-traducción típicos de las células eucariontes (glicosilación, plegado) limitando el espectro de proteínas recombinantes que pueden expresar. Además, requieren de etapas adicionales de purificación, pues las proteínas se suelen almacenar en cuerpos de inclusión o producen endotoxinas. En el caso de los vegetales, éstos poseen la maquinaria adecuada para la producción de proteínas animales, aunque lo hacen con ciertas modificaciones en los patrones de glicosilación, siendo capaces de producir proteínas complejas incluyendo glicoproteínas y proteínas multiméricas (Strasser y col., 2008; Álvarez, 2014; Buyel, 2018; Montero Morales y Steinkellner, 2018; Buyel, 2019; Shanmugaraj y col., 2020).

Ante este panorama la biotecnología vegetal combinó las necesidades de la industria farmacéutica (anticuerpos monoclonales) con las nuevas biomanufacturas de proteínas con el objetivo de obtener productos farmacéuticos de naturaleza proteica a precios razonables. Estos sistemas vegetales transgénicos alternativos están representados por los cultivos *in vitro* (células, tejidos, órganos) y por plantas enteras, obtenidos por ingeniería genética, capaces de producir proteínas homólogas o heterólogas específicas.

## Transformación vegetal

La introducción de un gen o genes heterólogos de interés en las plantas puede realizarse utilizando procedimientos directos o indirectos. Dentro de los métodos directos los más comunes son los físicos (electroporación, biobalística), con una alta tasa de daño celular, y los químicos (mediados por PEG, fosfato de calcio y lípidos artificiales, entre otros).

Los métodos indirectos involucran la transferencia de ADN usando vectores tales como cepas de *Agrobacterium tumefaciens*, vectores virales o una combinación entre ambos. La transformación vegetal mediada por *A. tumefaciens* es una de las más utilizadas para la introducción de genes. Esta bacteria habita naturalmente en el suelo y tiene la capacidad de infectar plantas dicotiledóneas generando la enfermedad denominada "corona de agallas" (De la Riva y col., 1998). La característica más llamativa de esta infección es la transferencia de un fragmento de ADN particular (ADN-T) desde el plásmido Ti (*Tumor-inducing*) al núcleo de la célula vegetal. El ADN-T contiene principalmente dos tipos de genes, los oncogénicos, que codifican enzimas involucradas en la síntesis de auxinas



**Tabla 1:-** Características de las diferentes plataformas de expresión de proteínas recombinantes

Características	Bacterias	Células animales	Levaduras	Células de insectos	Plantas
<b>Manipulación</b>	Simple	Altos	Simple		Rápida
<b>Costos</b>	Bajos	Altos	Bajos	Altos	Bajos
<b>Escalado</b>	Sencillo		Sencillo		Sencillo
<b>Plegamientos post-traducción</b>	Incompleto	Adecuados	Similares, glicosilación limitada	Similares, glicosilación limitada	Similares, glicosilación limitada
<b>Niveles de expresión</b>	Alto	Alto	Medio	Medio	Bajo
<b>Patógenos humanos</b>	Sí	Sí	No	No	No
<b>Endotoxinas</b>	Sí	No	No	No	No
<b>Marco regulatorio</b>	Establecido	Establecido	-	-	Establecido

y citoquininas, responsables de la formación del tumor, y los genes que codifican enzimas para la síntesis de opinas. Estos compuestos se forman por la condensación de aminoácidos y azúcares, y son en conjunto sintetizados y secretados por las células de la corona de agallas y consumidos por *A. tumefaciens*, como fuente de carbono y nitrógeno. Por fuera del ADN-T se localizan los genes encargados del catabolismo de las opinas, los genes involucrados en la transferencia del propio ADN-T desde la bacteria a las células vegetales (genes *vir*), y por último los genes involucrados en la conjugación entre bacterias (Zhang y col., 2015). El ADN-T ingresa a la planta y se integra al azar dentro del genoma vegetal por recombinación ilegítima a partir de micro-homologías entre el genoma vegetal y el ADN-T. Una vez que se integra la hebra simple de ADN, se activa el mecanismo de reparación de ADN de la planta y se sintetiza la hebra complementaria (De la Riva y col., 1998; Wolternik-van Loo y col., 2015). Una vez allí se expresan sus dos genes, el de las hormonas (oncogénico) que provoca un crecimiento descontrolado de las células vegetales, y el que induce a las células a producir grandes cantidades de opinas, una sustancia que la planta no puede aprovechar y la excreta. Las bacterias, que se encuentran en el espacio intercelular se nutren y multiplican en este nicho. Los plásmidos Ti se clasifican en base a las opinas que sintetizan y secretan las células que han sido infectadas por estos (De la Riva y col., 1998; Palacio-Bielsa y col., 2009). Los más estudiados son los de nopalina/agrocinopina (pTiC58 y pTiT37) y los de octopina/manopina (pTiB6 y pTi15955). Durante años se estudió el proceso de transferencia del ADN-T a las células vegetales demostrándose tres factores importantes para la práctica.

Primero, la formación del tumor involucra por un lado la transferencia del fragmento de ADN y por otro lado su integración y subsecuente expresión. Segundo, los genes contenidos en el ADN-T se transcriben únicamente en las células vegetales y no están implicados en el proceso de transferencia. Tercero, cualquier ADN foráneo situado entre los bordes específicos (derecho e izquierdo) puede ser transferido a las células vegetales sin importar su origen. Estos factores permitieron la construcción de sistemas de vectores y cepas bacterianas para lograr la transformación vegetal. Ejemplos de éstos son los vectores serie pGA, pCG, pCIT, pGPTV, pBEK2000, BiBAC y pGreen, los vectores Gateway y los vectores co-integrados (Schell y Van Montagu, 1977; Herrera-Estrella y col., 1983; De la Riva y col., 1998; Zambryski, 2013; Karimi y col., 2002).

Los vectores virales tienen la ventaja de ser más sencillos de manipular. Pueden ser sistemas de presentación de epítopo con el péptido dispuesto en la superficie viral (derivados de los virus CPMV, TMV, TBSV, PPV, AIMV) o de expresión de polipéptido con el transgen usualmente expresado con un péptido no fusionado en las células infectadas (derivados de CPMV, TMV, TBSV, PPV, PVX, TGMV). Se desarrolló un sistema de expresión, la magnificación, que combina el genoma de un vector viral vegetal con el plásmido binario de *Agrobacterium*. Esta estrategia está caracterizada por permitir la expresión de la proteína de interés en un lapso más breve que los anteriores, con rendimientos mayores, sin la intervención de virus salvajes, resultando ser muy versátil (Giritch y col., 2006; Klimyuk y col., 2014; Zischewski y col., 2016). La Tabla 2 resume las ventajas y desventajas de los diferentes sistemas de expresión de proteínas recombinantes en sistemas vegetales.

**Tabla 2-** Ventajas y desventajas de los sistemas de expresión estable y transitorio

Sistema de expresión	Ventajas	Desventajas
Nuclear	Escalado Bioseguridad Económico	Dosificación Tiempo Rendimiento
En coloroplastos	Rendimiento Estables Sin escapes del transgen	Limitado a algunas especies
Transitoria	Tiempo Alto rendimiento Costos No se originan OGM	Estabilidad de producción

### Transformación estable

En el año 1983 se informó a cerca de la expresión funcional de un gen foráneo luego de reemplazar los genes *vir* del T-ADN por el gen de una proteína heteróloga (Herrera-Estrella y col., 1983). Este fue el punto de partida para la expresión de proteínas recombinantes usando como vector a *Agrobacterium*. La transformación nuclear mediante *Agrobacterium* es la estrategia tradicional para la producción de proteínas recombinantes en plantas. El gen para la proteína de interés se encuentra usualmente bajo el control de un promotor constitutivo fuerte, como el del virus del mosaico de la coliflor (CaMV35S). En ese caso, la proteína se expresa en toda la planta, pero usualmente se extrae de las hojas por proveer de mayor biomasa respecto a los restantes órganos vegetales. En la célula, la proteína recombinante puede ser dirigida hacia una localización subcelular específica como el retículo endoplásmico (RE), el citoplasma o el apoplasto, por la adición de señales adecuadas. Una vez realizada la transformación se debe seleccionar la línea que alcanza los niveles mayores de expresión para conducir el proceso productivo. La transformación estable es un proceso que lleva tiempo y en muchos casos los niveles de expresión no resultan competitivos respecto de las otras plataformas disponibles.

Otra estrategia en uso es la transformación de cloroplastos mediante la inserción del ADN foráneo por recombinación homóloga en el genoma cromosomal, produciéndose así cientos de copias del transgen y, por lo tanto, altos rendimientos de la proteína deseada. En este sistema no se presenta silenciamiento génico y se pueden incorporar varios transgenes en operones y co-exresarlos desde un único promotor como un ARNm policistrónico. Se informaron altos niveles de producción (hasta 72 % de proteína total soluble (PTS)) (Ruhlman y col., 2010) de algunas proteínas recombinantes (Maliga, 2002; Jin y Daniell, 2015). Algunos inconvenientes son una expresión limitada a proteínas no glicosiladas, la inestabilidad de la proteína y la baja expresi-

ón en los tejidos no verdes. Una de sus ventajas es que la herencia materna reduce la posibilidad de transmisión del transgen a través del polen (Daniell y col., 1998). Se han expresado enzimas, anticuerpos, antígenos y otras proteínas de interés para la industria farmacéutica con niveles de expresión que oscilan entre 4 al 18 % PTS (Zhang y col., 2017), no obstante, ninguna proteína obtenida mediante este sistema de producción ha alcanzado aún el mercado.

### Expresión transitoria

Inicialmente la transformación transitoria fue usada para probar la eficiencia de los constructos diseñados para expresar genes y para validar la actividad de proteínas recombinantes recientemente expresadas. Debido al alto rendimiento de proteína, a que no genera organismos genéticamente modificados (OGM) y a que permite la rápida co-expresión de diferentes genes, esa estrategia se transformó en una plataforma atractiva para producir biofármacos. Los sistemas de expresión transitoria, mediada por recombinación viral o vectores vegetales binarios, se están usando cada vez más debido a la elevada velocidad de producción, altos rendimientos de proteína y a la facilidad de cumplimentar aspectos regulatorios pues no se trabaja, en sentido estricto, con sistemas vegetales genéticamente modificados. Durante este proceso, los genes foráneos se introducen en general en el mesófilo de hojas de plantas intactas por infiltración al vacío usando *Agrobacterium* como vector del/los gen/es de interés. La producción de la proteína recombinante (basada en la expresión extracromosomal del gen en la célula vegetal) es iniciada dentro de las 24 horas de realizada la introducción del gen y continúa por varios días (mediada por *Agrobacterium*) o varias semanas (mediada por virus) dependiendo del vector y de la proteína. Aunque es posible

la integración cromosomal, ésta ocurre a una frecuencia considerablemente menor comparada con el número de células que expresan de manera transitoria el gen de interés (Circelli y col., 2010; Shelduki, 2008). Otra ventaja de este sistema es que permite la co-expresión rápida de múltiples genes (Medrano y col., 2009). Las plantas así tratadas se cultivan de manera confinada en invernáculos (Circelli y col., 2010), no obstante, es necesario contar con invernáculos de dimensiones considerables, infraestructura de infiltración, procesamiento *ad hoc* y etapas de purificación adicionales para remover las endotoxinas derivadas del *Agrobacterium* utilizado. Se han utilizado especies vegetales diversas, como por ejemplo, *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae), *N. benthamiana* Domin (Solanaceae), *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (Brassicaceae), *Solanum tuberosum* L. (Solanaceae), *Phaseolus* sp. (Leguminosae) y *Lactuca sativa* L. (Compositae) (De Muynck y col., 2010). Se ha calculado que en un sistema de expresión transitoria se alcanzan rendimientos entre 4 y 20 veces mayor al de su contraparte estable (usando el promotor CaMV35S) (Medrano y col., 2009). Con vectores virales se suelen obtener rendimientos mayores que con *Agrobacterium*, alcanzándose por ejemplo niveles de hasta 5 mg/g en el caso de GFP (green fluorescent protein) (Marillonnet y col., 2004). Sin embargo, al usar vectores virales la expresión del gen de interés se suele alcanzar a partir de los 14 días de la infección. Se han desarrollado sistemas de expresión combinados denominados Genaware®, MagnIcon® y Geminivirus technology, que permitieron producir por ejemplo  $\alpha$ -tricosantina y lipasa ácida lisosomal humana (Genaware), antígeno de hepatitis B y partículas tipo virus Norwalk y antígenos F1 y V de *Yersinia pestis* (MagnIcon), subunidades de cadena pesada y liviana del anticuerpo monoclonal 6D8 contra el virus del Ébola GP1 (Geminivirus technology). En ocasiones con el objetivo de incrementar los rendimientos se co-expresan supresores virales del silenciamiento génico (por ejemplo, P19 del *Artichoke mottled crinkle virus* - AMCV) (Circelli y col., 2010; Laguia Becher y col., 2019). También se han desarrollado sistemas de agroinfiltración automatizados que permiten trabajar en gran escala y en Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) (Chen y col., 2013; Buyel, 2018). Una experiencia prometedora fue el uso de una plataforma vegetal transitoria a gran escala como una rápida respuesta al brote pandémico de influenza. La proteína H5 tipo viral (VLP) fue expresada por agroinfiltración en *A. thaliana* (D' Aoust y col., 2010; Hendin y col., 2017) obteniéndose aproximadamente 25 kg de biomasa de hoja al sexto día post infiltración. Usando esta tecnología Medicago Inc. probó una vacuna experimental contra la nueva cepa (A/H1N1) que apareció en 2009, cuya inmunogenicidad fue probada en ratones y demostró su eficacia y velocidad de respuesta en los ensayos clínicos (Hodgins y col., 2019; Pillet y col., 2019). En 2014 se desarrolló una vacuna contra Rotavirus en *N. benthamiana* (Pêra y col., 2015). Mediante la magnifi-

cación (MagnIcon®) que combina el genoma de un vector viral vegetal con el plásmido binario de *Agrobacterium* se alcanzaron rendimientos de 60  $\mu$ g/g de hoja fresca de la proteína recombinante H5HA-1 de influenza (Yusibov y Mamedov, 2010). Del mismo modo, Mapp Biopharmaceutical Inc. USA produjo una droga experimental ZMapp® para el tratamiento de la infección por el virus del Ébola por expresión en *N. benthamiana* de un cóctel de tres anticuerpos monoclonales quiméricos. En este caso además se realizó la glicoingeniería de *N. benthamiana* mediante el *knock down* de  $\beta$ -1,2-xilosiltransferasa y  $\alpha$ -1,3-focosiltransferasa específicas de vegetales (Strasser y col., 2008; Qiu y col., 2014).

En el caso de una situación pandémica esta plataforma transitoria permitiría producir altas cantidades, suficientes como para cubrir buena parte de la demanda. En el caso del coronavirus (COVID-19) también podría ser una plataforma adecuada para producir rápidamente la proteína necesaria como, por ejemplo, antígenos virales, proteínas antivirales, para ser usados como reactivos, vacunas de emergencia (vacunas a subunidad SARS-CoV-2 y partículas tipo virales) u otro biofármaco necesario y también para ser usados en inmunoterapia pasiva (Shanmugaraj y col., 2020).

Las compañías Medicago (Canadá), Kentucky BioProcessing (KT, USA) y iBio (USA) están en carrera para desarrollar vacunas potenciales para COVID-19 en plantas (Capell y col., 2020). Estos sistemas son usados a escala industrial, por ejemplo, en el Fraunhofer Center for Molecular Biotechnology (Newark, DE), Medicago Inc (Quebec, Canadá), Texas A&M (College Station, TX) y Kentucky Bi-Processing LLC (Owensboro, KY), donde éstos últimos han desarrollado plantas en las que se trabaja en BPM.

## Glicosilación

Un aspecto importante a tener en cuenta cuando se desea utilizar la plataforma vegetal para producir proteínas recombinantes es la diferencia en la glicosilación de las proteínas entre células vegetales y animales. El núcleo central de la molécula es semejante en ambas, pero hay diferencias significativas en los residuos de ácido siálico y  $\beta$ -(1,4)-galactosa típicos de los animales, y los de  $\beta$ -(1,2)-xilosa y  $\alpha$ -(1,3)-fucosa típicos de las plantas (Bosch y col., 2013). En las células eucariontes el ensamblado de moléculas complejas, como los anticuerpos, es asistido por chaperonas que median el plegamiento y la formación de puentes disulfuro, mientras que la adición de N-glicanos es llevada a cabo por glicosiltransferasas específicas. La N-glicosilación usualmente afecta la estabilidad, solubilidad, plegado y actividad biológica de la proteína. Las primeras etapas de la síntesis proteica son similares en plantas y animales y tienen lugar en el retículo endoplasmático (RE). La proteína sigue su ruta a través del RE y el aparato de Golgi, donde sufre la remoción o adición de residuos de azúcar. El proce-

so en las plantas y los animales difiere cuando la proteína es transferida al aparato de Golgi. En las plantas una  $\beta$ -(1,2)-xilosa es unida a un residuo de manosa del núcleo y una  $\alpha$ -(1,3)-fucosa se une a una N-acetilglucosamina proximal. También las plantas carecen de residuos de  $\beta$ -(1,4) galactosa terminales. Es por esto que la N-glicosilación representa limitaciones en el uso de las proteínas recombinantes producidas en las plantas y se considera como el mayor inconveniente para el uso de este tipo de moléculas en terapia humana por posibles reacciones inmunogénicas. No obstante, no existen evidencias de efectos adversos en humanos relacionados con este tema en los ensayos clínicos realizados hasta ahora (Jin y col., 2008; Tusé y col., 2015). Se han utilizado diferentes estrategias para optimizar los perfiles de N-glicosilación tales como la inactivación de glicosiltransferasas específicas de plantas o su complementación con glicosiltransferasas humanas heterólogas (Steinkellner y Castilho, 2015; Montero-Morales y Steinkellner, 2018) de modo de alcanzar la actividad biológica y la vida media deseada. En cuanto a los O-glicanos, en las proteínas vegetales están primariamente unidos a residuos de hidroxiprolina y serina. En las células animales, los O-glicanos son del tipo de los de la mucina que se sintetizan en el aparato de Golgi en una serie de pasos independientes. Se demostró que las plantas pueden expresar O-glicoproteínas complejas como LTBMUC1 (*E. coli* subunit B enterotoxin: *H. sapiens* mucin1 tandem repeat-derived peptide fusion protein), con las características de la O-glicosilación de animales. LTBMUC1 se expresó en *N. benthamiana* por transformación transitoria y estable usando *A. tumefaciens* y co-expresando GalNAc-T2 humana, el transportador UDPGlcNAc/UDPGalNAc de *Caenorhabditis elegans*, y la UDP-GlcNAc 4-epimerasa de *Yersinia enterocolitica*. LTBMUC1 aparece también decorada con C-glicanos específicos de las plantas unidos a los residuos de hidroxiprolina (Daskalova y col., 2010). Recientes estudios mostraron que la Hyp-O glicosilación específica de plantas podría ser una alternativa a la PEGilación para aumentar la vida media de proteínas terapéuticas humanas; sin embargo, resta realizar aún más estudios relativos a la posible inducción de inmunogenicidad y alergenicidad en humanos (Gomord y col., 2010). Usando estas estrategias se ha logrado producir glicoproteínas recombinantes "humanizadas" con patrones de glicosilación con gran homogeneidad demostrando así que los sistemas vegetales son plataformas versátiles para la producción de proteínas "glicomejoradas" (Donini y Marusic, 2019).

### Proteínas recombinantes producidas en plantas de interés para la industria farmacéutica

Existen numerosos artículos referidos a la expresión de proteínas recombinantes funcionales en plantas incluidos anticuerpos monoclonales, antígenos vacunales, enzimas terapéuticas, proteínas de la sangre, citoquinas, factores de crecimiento y hormonas de crecimiento, tanto en sistemas *in vivo* como *in vitro* (De Muynck y col., 2010; Xu y col., 2012;

Álvarez, 2014). Los avances técnicos han permitido la transformación de una gran variedad de especies incluyendo algunas no convencionales como *Medicago truncatula* Gaertn. (Leguminosae), que tiene la ventaja que produce estructuras de glicanos más homogéneas. En el mercado, ProdiGene Inc. comercializa avidina (Hood y col., 1997),  $\beta$ -glucuronidasa (Witcher y col., 1998) y tripsina (Woodard y col., 2003).

### Anticuerpos

Los anticuerpos monoclonales (mAb) son uno de los grupos de biofármacos más relevantes por su especificidad de unión a diferentes moléculas blanco y su estabilidad tanto *in vivo* como *in vitro* (Donini y Marusic, 2019) existiendo una creciente demanda que no puede ser rápidamente cubierta por las plataformas productivas más comunes. Su producción en sistemas vegetales ha sido el foco de mucha investigación ya que resultarían competitivos con la ventaja adicional que no tienen el riesgo asociado de portar patógenos animales. Se ha calculado que el costo de producción de anticuerpos monoclonales en plantas transgénicas oscila en 100 €/g (Buyel, 2017) lo que es comparable al costo promedio de producción en células CHO que es de 50-100 €/g (Lim y col., 2010). Desde que se informó por primera vez la expresión de anticuerpos en plantas (Hiatt y col., 1989) se han expresado anticuerpos completos o sus fragmentos. Inicialmente las cadenas pesadas y livianas de inmunoglobulinas se clonaban separadamente. Las plantas transformadas resultantes se cruzaban y algunas de las plantas de la progenie expresaban las cadenas ensambladas como anticuerpos funcionales. Más adelante se logró expresar ambas cadenas en un solo evento obteniéndose plantas que expresaban al anticuerpo completo funcional (De Muynck y col., 2010). A partir de entonces se han producido de este modo muchos anticuerpos monoclonales usando tanto *Agrobacterium* como vectores virales para llevar a cabo transformación estable o transiente. Las especies vegetales más utilizadas son *Nicotiana benthamiana*, *N. tabacum*, *Arabidopsis thaliana*, *Lemna minor* L. (Araceae), *Lactuca sativa*, *Solanum tuberosum*, *Zea mays* L. (Poaceae), entre otras. Algunos de los fragmentos de anticuerpos expresados son el fragmento de unión a antígeno (Fab) conteniendo uno de los dos sitios idénticos de combinación de la inmunoglobulina, el fragmento bivalente simple (F(ab')<sub>2</sub>) conteniendo dos sitios de combinación, fragmentos que consisten solamente en las regiones variables de las cadenas pesada y liviana (Fv) que retienen la capacidad de unirse al antígeno, fragmentos variables de simple cadena (scFv) que consisten en los dominios VL y VH unidos por un péptido flexible manteniendo la capacidad de unión a antígeno, y anticuerpos de dominio simple (VHH) de los camélidos. Además, las plantas son la única plataforma viable no animal para la producción de anticuerpos secretores (IgAs) (Paul y Ma, 2011). El primer anticuerpo en ingresar en estudios clínicos en Europa



fue el anticuerpo P2G12 producido en tabaco transgénico para usar como microbicida contra infecciones por HIV (Ma y col., 1995). En Estados Unidos el anticuerpo CaroRx® (IgA secretora) empleado para el tratamiento de caries dentales, expresado en tabaco, pasó la fase II de estudios clínicos (Weintraub y col., 2005; Juárez y col., 2016). Otros anticuerpo que se han expresado exitosamente y se encuentran en estudios clínicos son la avicidina, una IgG contra la molécula de adición epitelial (EpCAM), destinada al tratamiento de varios cánceres refractarios (colon, pulmón, próstata), el anticuerpo 2G12 anti-HIV1 que se expresan en maíz (Gavilondo y Larric, 2000) con rendimientos de hasta 75 mg/kg de semilla (Rademacher y col., 2008) y el conjunto de anticuerpos monoclonales expresados en *N. benthamiana* contra el virus del Ébola (Qiu y col., 2014; Strasser y col., 2008).

### Antígenos Vacunales

Las plantas también expresan inmunógenos antigénicos que pueden usarse para formular vacunas. La producción de vacunas comestibles fue propuesta en los años 1980 pero llevó muchos años probar el concepto. Actualmente existen algunas vacunas con antígenos producidos en plantas que se encuentran en estudios clínicos para ser usados como vacunas comestibles o por administración parenteral o tópicamente. La subunidad B de la toxina del cólera, la primera vacuna formulada con una proteína recombinante obtenida por transformación de cloroplastos, se acumuló hasta en un 4-10 % de proteína total soluble en las hojas de tabaco. La toxina de la difteria, el fragmento C del tétanos (TetC), y la subunidad S1 no tóxica de la toxina pertussis (PTX S1) se expresaron en plantas de tabaco con bajo contenido alcaloidal y en cultivos de células de zanahoria. La secuencia codificante se colocó bajo el control de los promotores fuertes RbcSI (tabaco) o CaMV35S (zanahoria), en el vector binario pBINPlus con el gen *nptII* para la selección con kanamicina. Los antígenos se produjeron en hojas de tabaco o en suspensiones celulares de zanahoria y luego de la extracción y purificación se usaron para formular una vacuna que se inyectó a ratones BALB/c. Se desencadenó una respuesta humoral fuerte con anticuerpos antígeno-específicos luego de la exposición a toxoide pertussis, tétanos o difteria (Brodzik y col., 2009). La glicoproteína E2, principal inmunógeno de la diarrea viral bovina se expresó de manera transitoria y estable en tabaco. Los extractos de las hojas de plantas transformadas transitoriamente se utilizaron para formular una vacuna experimental que desencadenó una respuesta inmune con anticuerpos neutralizantes específicos (Nelson y col., 2012). Asimismo, el fragmento de anticuerpo scFv contra la metaloproteínasa BaP1 del veneno de *Bothrops asper* Garman (Crotalinae - Viperidae) en *N. benthamiana* de manera transitoria y estable (Gomes

y col., 2019). Se estudió también el uso de varias especies para la producción de vacunas comestibles, por ejemplo, tomate (*Solanum lycopersicum* L. -Solanaceae-) contra la malaria, banana (*Musa x paradisiaca* L. -Musaceae-) para hepatitis (HBsAg), alfalfa (*Medicago sativa* L. -Leguminosae-) para expresar Eeg95-EgA31 de *Echinococcus ganulosus*, zanahoria (*Daucus carota* L. -Apiaceae-) para desarrollar vacunas experimentales contra HIV, *Escherichia coli* y *Helicobacter pylori*, papa (*S. tuberosum*) contra hepatitis (HBsAg) y arroz (*Oryza sativa* L. -Poaceae-) contra hepatitis (HBsAg) y *Ascaris suum* (Thanavala y col., 2005; Kurup y Thomas, 2020). Una gran ventaja de estas llamadas "vacunas comestibles" es que induce la respuesta inmune de mucosas, por lo que son candidatos importantes las enfermedades que se previenen con inmunidad de mucosas. Las vacunas MucoRice-CTB® y MucRice ARP1® poseen el antígeno CTB de la toxina B del cólera y el dominio variable del fragmento de anticuerpo de cadena pesada de rotavirus que se acumulan en semillas de arroz. Ambas vacunas protegen mediante la inducción tanto de inmunidad de mucosa como sistémica (Nochi y col., 2007; Tokuhara y col., 2013; Kiyono y Azegami, 2015). Una desventaja potencial de este tipo de vacunas es la dificultad en controlar la dosis y que ésta se mantenga consistente, ya que puede diferir de fruto a fruto, de planta a planta o de generación en generación. Para sortear este inconveniente se podría extrapolar a las vacunas comestibles la estrategia exitosa utilizada por Protalix Co. que usa células de zanahoria liofilizadas conteniendo el anti-TNF o la enzima glucocerebrosidasa para su administración oral y de Interberry que expresa -interferón canino en frutillas (*Fragaria x ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier -Rosaceae-) que luego se incorporan dentro del alimento animal balanceado (Testa y col., 1997).

### Otras proteínas de interés farmacéutico

Además de antígenos y anticuerpos, es posible expresar en plantas otras proteínas como enzimas, inhibidores de enzimas, factores de la coagulación, citoquinas y hormonas. Algunos ejemplos son el péptido sintético antimicrobiano D4E1 que se expresó en tabaco. Sus extractos crudos resultaron inhibitorios para *Aspergillus flavus* y *Verticillium dahliae*, mientras que las plantas transformadas fueron resistentes a *Colletotrichum destructivum*. También dos epitopes del virus del papiloma humano, HPV16 E7 y HPV16 L2, fueron expresados transitoriamente en *N. benthamiana* (Čeřovská y col., 2008). La somatotrofina humana se acumula hasta en un 7 % de proteína total soluble mediante transformación plasmídica y 10 % de proteína total soluble en el apoplasto (Gils y col., 2005), mientras que la seroalbúmina humana se ha expresado tanto de manera estable como transiente en *N. benthamiana* y *N. tabacum* cv Xanthi y Samsun (Sedeghati y col., 2020). El factor de coagulación humano IX (hFIX) se expresó

mediante biobalística en semillas de *Glycine max* (L.) Merr. (Leguminosae) alcanzándose niveles de hasta 0,23 % (0-8 g kg<sup>-1</sup> de semillas) de proteína total soluble y permaneció estable y funcional por hasta 6 años mantenida a temperatura ambiente (Cunha y col., 2011). Se expresó también un precursor (pFIIa) de la serin proteasa -trombina en *N. benthamiana* de manera transitoria y estable. Los niveles de expresión por transformación transitoria con señal de direccionamiento hacia el retículo endoplasmático resultaron 10 veces superiores (0,21 % p/p) a los alcanzados en suspensiones celulares (Laguia Becher y col., 2019).

## Sistemas de producción

La producción de proteínas recombinantes se puede encarar desde dos diferentes enfoques. Por un lado, se puede realizar la producción en cultivos a campo, pues como existe la infraestructura instalada es sencillo realizar el escalado aumentando el número de hectáreas cultivadas. Por el otro lado, los cultivos pueden realizarse de manera confinada como, por ejemplo cultivos verticales, hidropónicos, en invernáculo, *in vitro* en biorreactores.

### Producción en cultivos a campo

En el caso de los cultivos a campo, una de las mayores ventajas es que el escalado puede alcanzarse aumentando el área cultivada, lo que conduce a una producción potencial de cientos de kilogramos de proteínas purificadas por año. Luego de la cosecha se siguen una serie de etapas para la extracción y purificación hasta llegar al uso de las proteínas puras como ingrediente activo farmacéutico. Por otro lado, existe la desventaja de la duración del proceso, la inestabilidad en el rendimiento y calidad del producto, la dificultad de trabajar bajo Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) y Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en las primeras etapas del proceso, la susceptibilidad a pestes y enfermedades, el riesgo de contaminación con agroquímicos o fertilizantes y los riesgos de transferencia de genes a cultivos convencionales, por lo que se requiere trabajar bajo regulaciones específicas para organismos genéticamente modificados que varían de un país a otro (Álvarez, 2014). Dentro de las ventajas está el hecho de que no se requiere de una infraestructura costosa y la capacidad de escalar para alcanzar la demanda es rápida. No obstante, existen riesgos de polinización cruzada (Stoger y col., 2002) que en aquellos casos en que se verificaron llevaron a la destrucción total de los cultivos (Moon y col., 2020). Es por esto que es necesario seguir reglamentaciones estrictas (Ruf y col., 2007; Svab y Malinga, 2007; Breyer y col., 2009; McPherson y col., 2009). La información referente al cultivo de plantas transgénicas en la Argentina se puede encontrar en la página web del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca: [https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/biotechologia/marco\\_legal/](https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/biotechologia/marco_legal/)

Cuando la proteína expresada se acumula en hojas la especie más utilizada es el tabaco, por las ventajas que presenta relacionadas con la gran cantidad de biomasa producida y su susceptibilidad a la transformación (Tremblay y col., 2010). El primer ensayo clínico realizado para una proteína recombinante fue una variante del anticuerpo secretor Guy's13 producido en hojas de tabaco por Planet Biotechnology Inc. (Ma y col., 1998; Kaiser, 2008). Como ya se dijo, la transformación genética del tabaco es sencilla, además es un cultivo que no se encuentra dentro de la cadena alimentaria, produce mucha biomasa productiva y es una de las plataformas de producción de proteínas recombinantes más estudiada. Se han desarrollado variedades de tabaco con bajo contenido de nicotina y alcaloides que permiten sortear la potencial toxicidad que podrían tener los productos (Menassa y col., 2001). Además del tabaco se usan otras especies de buen desarrollo foliar como *Lactuca sativa*, *Medicago sativa*, *Trifolium* sp., entre otras. La expresión de proteínas recombinantes en hojas ha sido exitosa para la expresión de una enorme variedad de proteínas como ser anticuerpos, vacunas, citoquinas, hormonas de crecimiento e industriales (Sharma y Sharma, 2009). Una de las limitaciones del direccionamiento de las proteínas recombinantes a las hojas es la necesidad de un procesamiento inmediato luego de la cosecha para asegurar la estabilidad y calidad del producto. El rendimiento en las hojas está asociado a variables que impactan el medio ambiente (factores bióticos y abióticos) por lo que debe analizarse la producción en condiciones controladas (por ejemplo, invernáculos) sobre todo cuando la aplicación de la proteína recombinante será para la industria farmacéutica. En el caso de la expresión en semillas, la principal ventaja es su estabilidad durante el almacenamiento a temperatura ambiente con mínima pérdida de actividad de la proteína. En este caso la expresión está dirigida a las semillas a través de una secuencia señal apropiada. En las semillas, las proteínas protegidas de la degradación proteolítica alcanza niveles de expresión altos (7-10 % de proteína total soluble). La mayoría de las semillas usadas para expresar proteínas recombinantes se encuentra en la cadena alimenticia (*Oryza sativa*, *Triticum aestivum*, *Glycine max*, *Zea mays*, *Hordeum vulgare*) lo que demanda seguir estrictos protocolos y documentar cada paso del proceso. Algunas de las proteínas expresadas de esta manera son la hormona de crecimiento humano y el factor IX de coagulación en semillas de *G. max* (Cunha y col., 2011). La extracción de las proteínas desde semillas se ha mejorado por la fusión de la proteína recombinante a oleosinas que se acumulan en cuerpos oleosos. Dentro de las compañías líderes en esta área se encuentra SemBioSys Genetics (Calgary, Canada) que ha desarrollado una plataforma de fusión de la proteína recombinante a oleosinas que se acumulan en cuerpos lipídicos de *Carthamus tinctorius* L. (Compositae). Esta tecnología ha permitido producir a un costo excepcionalmente bajo insulina humana en semillas de *C. tinctorius* con niveles mayores al 1 % de proteína total con un rendimiento de 2-4 kg por hectárea (Moloney y col.,

2009) habiéndose demostrado su equivalencia con la insulina humana (Boothe y col., 2009). Otro ejemplo exitoso es el de la avidina transgénica, producida por Prodigene y comercializada por Sigma-Aldrich para su uso como reactivo de laboratorio. Se expresa de manera estable en semillas de maíz con rendimientos superiores al 2 % (Hood y col., 1997).

### En cultivos confinados

Debido al marco regulatorio muchos cultivos que expresan proteínas recombinantes son mantenidos en sistemas confinados (Kozai y col., 2005). Las ventajas de este sistema de producción son que el crecimiento se realiza en condiciones controladas, la calidad de los cultivos es uniforme, libre de pestes y patógenos, existe protección frente a las condiciones ambientales adversas, el área de cultivo en estantes es amplia y hay un control del crecimiento vegetal. Si además la proteína se expresa de manera transitoria los riesgos ambientales desaparecen.

Los sistemas de producción confinada pueden ser: en invernáculo (incluyendo hidropónicos) e *in vitro* (suspensiones de células vegetales y raíces transformadas).

### En invernáculo

Los invernáculos son bastante utilizados pues permiten ajustar el escalado sin incrementos exagerados de costos. De esta manera se producen proteínas cuya expresión se logra de manera estable o transitoria. La compañía Fraunhofer IME, trabajando bajo BPM, produce P2G12 en tabaco transgénico (estudios clínicos etapa 1) (Paul y col., 2014), la subunidad B modificada de la toxina del cólera en arroz para elaborar una vacuna oral (MucoRice-CTB) contra el cólera (Kashima y col., 2016), y el factor IX de coagulación fusionado al carrier CTB en lechuga (Su y col., 2015). ORF Genetics produce factores de crecimiento libres de endotoxinas y citoquinas en granos de cebada (Magnusdottir y col., 2013) los que se usan en la formulación de Bioeffect®, EGF y ISOKINE®. En tomate se expresa el antígeno F1-V de la peste bubónica (Matsuda y col., 2009, 2010, 2012). Hokus Co. comercializa InterBerry α® con interferón canino (CaIFN-α) recombinante expresado en frutillas para el tratamiento de la gingivitis en perros y los estudios realizados hasta ahora demostraron que es también aplicable para gatos (Tabayashi y Matsumura, 2014; Yamaki y col., 2020).

En el caso de los cultivos hidropónicos, estos sistemas garantizan un rápido crecimiento, en condiciones controladas y protegidas y se pueden adaptar tanto para expresión transitoria como estable en invernáculos o cuartos de cultivo. Pueden operarse todo el año, rinden varias cosechas anuales y tienen una buena relación costo-producción. La compañía Terrasphere desarrolló sistemas hidropónicos de alta densidad que pueden usarse durante todo el año para producir grandes cantidades de plantas transformadas transitoriamente y por ende grandes can-

tidades de proteínas recombinantes (Bourgoin y Charron, 2003). Los altos rendimientos alcanzados hace a estos sistemas competitivos respecto a las otras tecnologías en términos de calidad, costo y escalabilidad.

### Cultivos *in vitro*

Los sistemas de producción *in vitro* vegetales (suspensiones celulares, cultivos de raíces transformadas) se caracterizan por que son independientes del clima, calidad del suelo, estacionalidad, longitud del día y clima, se desarrollan de manera confinada en frascos agitados o en biorreactores, las condiciones del medio de cultivo están bien definidas y controladas, no hay riesgo de contaminación con patógenos vegetales ni con agroquímicos, pueden conducirse trabajando bajo BPM y BPL durante todas las etapas del proceso y la purificación del producto es más simple (Alvarez, 2014; Chen y Davis, 2016; Shanmugaraj y col., 2020). Esto es de gran relevancia pues más del 50 % del costo total de producción del proceso es debido a la etapa de extracción y purificación de la proteína lo que hace crítica la operación de *down stream processing* (DSP) (Martínez y col., 2005; López y col., 2010; Xu y Dolan, 2011; Schillberg y col., 2013). La primera proteína humana expresada en suspensiones celulares de *N. tabacum* fue la seroalbúmina humana y desde entonces se han expresado hormonas, anticuerpos, antígenos vacunales, citoquinas, proteínas de la sangre, entre otras. (Sijmons, 1990; Huang y McDonald, 2009). Un cuello de botella para la explotación comercial de la producción de proteínas en plantas son los bajos rendimientos. Para alcanzar niveles de producción competitivos debe maximizarse la eficiencia de todas las etapas del proceso productivo, desde la expresión del gen pasando por el desarrollo del cultivo hasta el (DSP) para la purificación de la proteína (Tabla 3). Se deben considerar varios factores, algunos de ellos son generales y aplican también para la producción en sistemas no confinados y otros son específicos de los cultivos *in vitro*. Entre los primeros se encuentran la posibilidad de actuar a nivel transcripcional por selección del promotor que mejor se ajuste a las necesidades (fuerte, inducible) y el uso de secuencias que modulan la expresión génica (enhancers, activadores, supresores), a nivel traduccional por optimización de las regiones no traducidas (UTR) 5' y 3' y por diseño de codones (por ejemplo, vegetalización de codones), a nivel pos-traduccional dirigiendo la expresión y acumulación de la proteína a un compartimento subcelular con bajos niveles de actividad proteolítica (ER, cloroplastos, entre otros), dirigiendo la proteína hacia la ruta secretora para ser colectada en el medio de cultivo (por ejemplo, en cultivos *in vitro*), co-expresando la proteína con un inhibidor de proteasa, o expresando la proteína recombinante como proteína de fusión con péptidos que se expresan de manera estable en elevada cantidad. Entre los segundos se encuentra la elección del sistema que se va a usar (suspensión, raíces transformadas), la optimización de la composi-

**Tabla 3-** Estrategias utilizadas para incrementar rendimientos de proteínas recombinantes en sistemas vegetales

Etapa	Estrategia
Transcripción	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desarrollo de promotores fuertes, duplicados, híbridos.</li> <li>• Uso de promotores inducibles</li> <li>• Uso de <i>enhancers</i>, activadores o represores</li> </ul>
Traducción	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diseño de codones</li> </ul>
Post-traducción	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Direccionamiento de las proteínas nacientes a compartimentos subcelulares como el retículo endoplasmático o cloroplastos</li> <li>• Co-expresión con inhibidores de proteasas, cofactores, supresores de silenciamiento génico</li> <li>• Expresión como proteínas de fusión a un péptido estable de alto nivel de expresión</li> </ul>
Cultivos <i>in vitro</i> (suspensiones celulares, raíces transformadas)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Optimización de la composición del medio de cultivo</li> <li>• Suplemento de agentes estabilizantes de proteínas</li> <li>• Secreción al medio de cultivo</li> <li>• Remoción <i>in situ</i> de las proteínas expresadas</li> </ul>
Cultivos en biorreactor	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Selección o mejoramiento del diseño del biorreactor</li> <li>• Selección de la estrategia de cultivo (cultivo en batch, batch alimentado, continuo)</li> </ul>

ción del medio de cultivo, el tipo de biorreactor y el modo de operación (Huang y McDonald, 2009). Es importante destacar que más del 50 % del costo total de la producción se encuentra en la extracción y purificación de la proteína por lo que las operaciones de *downstream processing* (DSP) son críticas (Buyel y Fischer, 2014). Aunque los costos de purificar proteínas desde sistemas vegetales es comparable al de los sistemas de cultivos microbianos y animales, los costos de capital necesarios para iniciar la producción comercial en planta y la potencial “economía de escala” aporta ciertas ventajas clave (Xu y Dolan, 2011). Sin embargo, los costos de DSP se pueden reducir sensiblemente si la proteína se libera al medio de cultivo. En este sentido, se puede inducir la vía secretora empleando señales de secreción o empleando agentes permeabilizantes (López y col., 2010). Una práctica frecuente es la adición de estabilizadores de proteína (gelatina, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, albúmina) al medio de cultivo. El agregado de polivinilpirrolidona (PVP) y seroalbúmina humana, muestra ciertas limitaciones a nivel del *upstream* tal como formación de espuma (HAS), y a nivel del *downstream* por una reducción de la eficiencia de unión en cromatografía en columna (PVP). También los agentes osmóticos (manitol, inositol) que inhiben la disrupción celular tienen una influencia positiva sobre la acumulación de proteínas recombinantes (López y col., 2010). Agentes de cubrimiento (por ejemplo, Pluronic F127) que evitan la adsorción de la proteína recombinante a las superficies de los frascos también se ha demostrado que aumentan los rendimientos (Álvarez, 2014). Debido a la acción de las proteasas presentes en el extracto vegetal es usual el agregado de inhibidores de

proteasa (EDTA, leupeptina, PMSF, entre otros). Por otro lado, también se utilizan oleosinas para incrementar rendimientos simplificando el *down stream processing*. La combinación de ultrafiltración y cromatografía fue usada para purificar un anticuerpo recombinante monoclonal humano anti-*Pseudomona aeruginosa* del tipo IgG1 serotipo O6ad con un alto grado de remoción de impurezas y la recuperación completa del anticuerpo. Se incluyó en ese caso un proceso de ultrafiltración de cascada en dos etapas (un módulo de 50 kDa y un módulo de fibra hueca de 50 ó 100 kDa MiniKros) seguido de un procedimiento de cromatografía en dos etapas (Yu y col., 2008). Para facilitar el aislamiento y la purificación de las proteínas recombinantes por cromatografía de afinidad a columnas de níquel, a veces se incluye en el constructo una secuencia de 6 histidinas (His6-tag). Otra estrategia es producir proteínas de fusión tipo polipéptidos de elastina (ELPylation) para aprovechar la agregación/precipitación reversible, temperatura dependiente de los ELPs y evitar las engorrosas y caras etapas cromatográficas. Esta estrategia se usó, por ejemplo, para la expresión de proteína de tela de araña en el ER de tabaco y papa (Hauptman y col., 2015). La selección del diseño del biorreactor es crucial (convencional, mangas plásticas, entre otros) así como el modo de operación (batch, batch alimentado, continuo). Se han desarrollado diferentes tipos de biorreactores para cultivar suspensiones celulares, incluyendo de tipo *air-lift*, columna de burbujeo, de membrana, de tambor rotatorio, tanque agitado, reactor *wave* y combinaciones entre ellos (Holland y Buyel, 2018). La productividad volumétrica de proteína recombinante en ellos oscila entre 4,5 - 7,7 mg/l a 100 - 247



mg/l. En los reactores de inmersión temporaria (RITA), que son tan utilizados en micropropagación pues permiten obtener una abundante biomasa, se ha producido el fragmento C de la toxina tetánica (8 % PTS) y la proteína A de superficie de *Borrelia burgdorferi* (7,6 % PTS). En reactores tipo *air-lift* se ha producido, en embriones somáticos de ginseng siberiano (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. -Araliaceae-) la subunidad B de la toxina lábil al calor de *E. coli*, con un rendimiento de 0,36 % PTS (Kang y col., 2006). Protalix desarrolló un biorreactor flexible de polietileno que ha permitido a la compañía coreana NBM producir proteínas en arroz que se secretan al medio ambiente para la formulación de INNOkine® y INNOzyme®, especialidades medicinales que se caracterizan por ser libres de suero, de componentes de origen animal y de endotoxinas y que se usan como bio-reactivos, ingredientes en cosmética, entre otros (Moon y col., 2020). Una limitación importante que tienen los cultivos *in vitro* y que es particularmente importante en los biorreactores, es el riesgo de contaminación que está presente durante toda la manipulación del cultivo. Todas las etapas se deben realizar en esterilidad, pues un pequeño error puede eliminar un cultivo o resultar en la pérdida de un lote completo. Esto incrementa los costos y se ha calculado que la producción de 1 kg de grano con proteína transgénica cuesta U\$S 0,20 pero su producción en reactor alcanza valores de hasta U\$S 200 debido a todos estos factores. Recientemente se han desarrollado biorreactores descartables, como alternativa a los tradicionales alcanzándose rendimientos de 75-85 % de anticuerpo M12 humano puro (95 % pureza) en suspensiones celulares de tabaco BY-2 (Eibl y col., 2008; 2010). Se han realizado también operaciones semi-continuas en dos etapas, una de crecimiento y otra de expresión, para la producción de butirilcolinesterasa (BChE) en suspensiones de arroz con rendimientos de hasta 1,6 mg BChE/l (Corbin y col., 2016). Se desarrolló recientemente una nueva estrategia denominada de “paquetes celulares” que consiste en agrofiltrar las células de la suspensión una vez eliminado el medio de cultivo para luego realizar la búsqueda y selección de las líneas de mayores niveles de expresión trabajando así en microescala. Mediante este mecanismo se ha logrado alcanzar rendimientos de 50-100 mg/kg los que resultan comparables a los de la planta (Rademacher y col., 2019). En la tabla 4 se mencionan los rendimientos de algunas proteínas recombinantes producidas en diferentes sistemas vegetales.

En el año 2012, la FDA aprobó la primer droga producida en suspensiones celulares, Eleyso®, constituida por  $\alpha$ -taliglucersa, forma activa recombinante de la enzima lisosómica  $\beta$ -glucocerebrosidasa y que es producida en suspensiones celulares de zanahoria (Grabowski y col., 2014; Pastores y col., 2014; Loh y Yusibov, 2017). “Eleyso” es usada en terapia de reemplazo para el tratamiento de la enfermedad de Gaucher y es producida por Protalix Biotherapeutics (Fox 2012, Mor 2015). En octubre del año 2015, por un acuerdo con Protalix BioTherapeutics, la compañía Pfizer obtuvo los derechos para su venta en todo el mundo. En

Latinoamérica se comercializa bajo el nombre de Uplyso® y en Brasil con el nombre comercial de *Bio-Manguinhos al-fataliglicerase*, por un acuerdo de transferencia tecnológica con la Fundação Oswaldo Cruz. Este logro demostró la competitividad de esta plataforma para producir proteínas de alto valor agregado (Yusibov y Rabindran, 2008; Jin y Daniell 2015; Tekoah y col., 2015; Santos y col., 2016). Otras proteínas producidas en suspensiones celulares son el Factor XII-A, interleukinas humanas, el anticuerpo 14D9, la enzima  $\alpha$ -galactosidasa A (Fabrazyme) para el tratamiento de la enfermedad de Fabry en suspensiones celulares de tabaco (Kizhner 2015),  $\alpha$ -1 antritripsina en suspensiones celulares de arroz (McDonald y col., 2005; López y col.; 2010) y el anticuerpo monoclonal bevacizumab en arroz (Chen y Davis, 2016). Fraunhofer IMA ha recibido la licencia para producir el anticuerpo 2G12 del virus del HIV en suspensiones celulares de tabaco para realizar estudios clínicos (Ma y col., 2015). La USFDA ha aprobado la vacuna recombinante contra la enfermedad viral Newcastle producida en cultivos celulares de tabaco sin nicotina (Vermij y Waltz, 2006). En *D. carota* se han expresado antígenos vacunales contra sarampión, HBVm HIV, *Yersinia pestis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli* enterotoxigénica, entre otros (Rosales-Mendoza y Tello-Olea, 2015). En el caso del *Oryza sativa*, se han expresado hGM-CSF (Shin y col., 2003), hormona de crecimiento humana (Kim y col., 2008), VEGF165 humana (Chung y col., 2014), tripsina bovina (Kim y col., 2011), pepsinógeno C humano (Islam y col., 2018). En arroz el uso del sistema promotor 3D de  $\alpha$ -amilasa que se activa por privación de azúcar (Lu y col., 1998) permite sortear el problema de los bajos niveles de expresión. Las compañías como Fraunhofer (Alemania), Kentucky BioProcessing (USA), Medicago (Canadá) y Protalix Biotherapeutics (Israel), entre otras, cuentan con el *know-how* y las instalaciones que les permite avanzar hacia los ensayos clínicos necesarios para la aprobación por las agencias regulatorias de medicamentos de las proteínas que producen.

Un caso particular es el de las raíces transformadas, o raíces en cabellera. Éstas se obtienen por infección de plantas con *Agrobacterium rhizogenes*, que se caracteriza por portar un plásmido inductor de raíces (Ri). La integración del T-DNA que se encuentra en este plásmido en el genoma vegetal resulta en la diferenciación y el desarrollo de raíces neoplásicas en el sitio de infección, llamadas *hairy roots*. Estas raíces transformadas se caracterizan por un crecimiento indefinido *in vitro* con alta estabilidad genética. Es posible desarrollar raíces transformadas a partir de semillas de plantas transgénicas que expresan proteínas recombinantes. Las raíces transformadas acumulan las proteínas en su biomasa o las secretan permitiendo una recuperación más económica y en condiciones bien definidas desde un medio de cultivo con bajo contenido proteico. La rizosecreción permite la producción continua de proteínas y su recuperación desde el medio

de cultivo sin requerimiento de lisis celular durante la extracción (Gurusamy y col., 2017; Gutiérrez-Valdes y col., 2020) seguida de una cromatografía de afinidad (Lonoce y col., 2018). Una limitación que tienen estos cultivos para desarrollarse en biorreactores clásicos es su crecimiento filamentosos, con muchas ramas. Para superar este inconveniente se diseñaron nuevos biorreactores, como el reactor con niebla (*mist-reactor*) que ofrece un estrés hidrodinámico bajo con alta transferencia volumétrica de oxígeno. La primera proteína de interés farmacéuti-

co producida en raíces transformadas fue el anticuerpo anti-*Streptococcus mutans* mAb Guy's 13 que se secreta al medio de cultivo (Wongsamuth y Doran, 1997). En raíces transformadas también se han expresado anticuerpos recombinantes (como el 14D9), enzimas, antígenos, factores de crecimiento, inmunomoduladores, interleukina-12, acetilcolinesterasa humana y rhEPO y en raíces transformadas de tabaco (Martínez y col., 2005; Xu y col., 2012; Häkkinen y col., 2014; Gurusamy y col., 2017, Lonoce y col., 2018).

**Tabla 4:-** Rendimiento de algunas proteínas recombinantes expresadas en diferentes especies y sistemas vegetales

Especie	Proteína	Sistema	Rendimiento	Referencia
<i>Solanum esculentum</i>	$\alpha$ 1-timosina	Cotiledón hipocótilo	6 $\mu$ g/g PF	Chen y col., 2009
<i>Oryza sativa</i>	Lactoferrina humana		25 % proteína total soluble	Huang y col., 2002
<i>Oryza sativa</i>	Lisozima humana		45 % PTS	Nandi y col., 2002
<i>Lactuca sativa</i>	Subunidad B toxina del cólera (CTB)	Cotiledones	0,24 % p/p PTS	Kim y col., 2006
<i>Lactuca sativa</i>	Proinsulina	Cotiledones	0,13 %	Mohebodini y col., 2014
<i>Nicotiana tabacum</i>	Antígenos vacuolales de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (CTB)	Cloroplastos	7,5 % PTS	Floss y col., 2010
<i>Lactuca sativa</i>	CTB		8,5 $\mu$ g/g	Lakshmi y col., 2013
<i>Solanum tuberosum</i>	HBsAg	Semilla	0,056 % PTS	Thanavala y col., 2005
<i>Nicotiana tabacum</i>	Subunidad B <i>Vibrio cholerae</i>	Cloroplastos	4,1 % PTS	Daniell y col., 2001
<i>Nicotiana tabacum</i>	Antígeno protector <i>Bacillus anthracis</i> , CTB (cólera)	Cloroplastos	4-5 % proteína total de hoja	Chan y col., 2016
<i>Nicotiana tabacum</i>	Antígeno F1-V <i>Yersinia pestis</i>	Cloroplastos	3,68 % PTS	Arlen y col., 2008
<i>Nicotiana tabacum</i>	Antígeno vacunal polio VP1	Cloroplastos	4-5 % proteína total de hoja	Chan y col., 2016
<i>Nicotiana tabacum</i>	E2	Hojas (transitoria), Nuclear	20 $\mu$ g g <sup>-1</sup> PF	Nelson y col., 2012
<i>Nicotiana tabacum</i>	Pretrombina	Hojas (transitoria), Suspensiones celulares	17 $\mu$ g g <sup>-1</sup> 0,25 $\mu$ g mL <sup>-1</sup>	Laguia Becher y col., 2019
<i>Nicotiana tabacum</i>	Anticuerpo catalítico 14D9	Suspensiones celulares, Raíces transformadas	2,31 $\mu$ g ml <sup>-1</sup> 64,03 $\mu$ g ml <sup>-1</sup>	López y col., 2010 Martínez y col., 2005
<i>N. benthamiana</i>	scFv contra la metaloproteinasas, BaP1 del veneno de <i>Bothrops asper</i>	Suspensiones celulares, Callos	83 $\mu$ g/g (en biomasa) 71,75 mg/L (en medio de cultivo)	Gomes y col., 2019
<i>Oryza sativa</i>	HSA	Callos	62 $\mu$ g/g	
<i>Oryza sativa</i>	hGH	Callos	45 mg/l	Liu y col., 2015
<i>Oryza sativa</i>	hGH	Callos	57 mg/l	Kim y col., 2008
<i>Nicotiana tabacum</i>	rhEPO	Raíces transformadas	185,48 $\mu$ g/g PF	Gurusamy y col., 2017
<i>Oriza sativa</i>	$\gamma$ -interferón	Callos	699,79 ng/g PF	Chen y col., 2004
<i>Helianthus annuus</i>	Hormona de Crecimiento Humana (hGH)	Callos	0,02 %	Barta y col., 1986
<i>Oryza sativa</i>	HSA	Callos	76,5 mg/l	Huang y col., 2005
<i>Nicotiana tabacum</i>	Hidrofobin	Suspensiones celulares	5 mg/g PF	Joensuu y col., 2010
<i>Nicotiana tabacum</i>	Hemaglutinina (HA)	Hojas (transitoria)	846 $\mu$ g/g PF	Fujiuchi y col., 2016
<i>Nicotiana tabacum</i>	rhEPO	Hojas (transitoria)	20 $\mu$ g/mg PTS	Gurusamy y col., 2017

## Conclusiones

Luego de más de 30 años de la obtención de la primera especie vegetal que expresa una proteína recombinante no quedan dudas de que las plataformas vegetales son idóneas para la producción de proteínas recombinantes, aunque la producción de cada una de ellas es un desafío particular. Estos sistemas vegetales presentan ventajas tanto económicas como técnicas. Las diferentes estrategias de expresión (nuclear, en cloroplastos, estable, transitoria) poseen características únicas que les permiten encarar la producción de productos blanco diversificados. En lo que respecta a la producción en escala agrícola, el costo de capital de equipamiento es bajo respecto al gran costo de capital destinado a la infraestructura necesaria para producir las proteínas por métodos tradicionales. La facilidad de escalado es una ventaja que puede ser aprovechada por los bajos incrementos en costos que el escalado que implica. Sus ventajas intrínsecas pueden ser desplazadas por los tiempos prolongados de desarrollo, variación en el rendimiento y calidad del producto, la posibilidad de contaminación con agroquímicos y fertilizantes, el impacto de pestes y enfermedades y la dificultad para aplicar BPM en los estadios tempranos de producción. Además, la producción a campo representa un desafío único pues se debe evitar la transferencia de genes a cultivos convencionales durante el desarrollo de los cultivos y por los costos asociados a la extracción de la proteína de interés. Los sistemas de expresión transitoria debido a su flexibilidad, rapidez de producción, altos rendimientos y ventajas económicas resultan muy adecuados para la rápida producción de proteínas terapéuticas como vacunas y anticuerpos. Además, la adopción de la tecnología de expresión transitoria parece ser la manera de agilizar el aspecto regulatorio. Otra alternativa atractiva es la producción en cultivos *in vitro*, pues permite la conducción del proceso en condiciones de buenas prácticas de manufactura (BPM) y de laboratorio (BPL). Asimismo, por trabajarse en un recipiente cerrado se reducen notablemente los problemas relacionados con los marcos regulatorios, por lo que resulta una plataforma consistente para la producción de biofármacos de aceptación tanto industrial como regulatoria. Estos menores requerimientos regulatorios compensan en parte sus mayores costos de producción. Varias compañías cuentan con el *know-how* e instalaciones que les permiten conducir procesos productivos usando las diferentes estrategias disponibles. Muchas de ellas ya han introducido compuestos al mercado y otras se encuentran en la etapa de los ensayos clínicos previos para su aprobación y comercialización.

## Referencias

- Alvarez, M.A. (2014). *Plant Biotechnology for Health. From Secondary Metabolites to Molecular Farming*. Springer Verlag, Switzerland.
- Arlen, P.; Singleton, M.; Adamovicz, J.; Ding, Y.; Davoodi-Semirromi, A.; Daniell, H. (2008). "Effective plague vaccination via oral delivery of plant cells expressing F1-V antigens in chloroplasts." *Infect. Immun.* 76: 3640-3650.
- Barta, A.; Sommergruber, K.; Thompson, D.; Hartmuth, K.; Matzke, M.; Matzke, A. (1986). "The expression of a nopaline synthase-Human growth hormone chimaeric gene in transformed tobacco and sunflower callus tissue." *Plant Mol. Biol.* 6: 347-357.
- Boothe, J.; Nykiforuk, C.; Kuhlman, P.; Whelan, H.; Pollock, W.; Clark, S.; Yuan, S.; Kumar, R.; Murray, E.; Visser, F. (2009). "Analytical characterization, safety and clinical bioequivalence of recombinant human insulin from transgenic plants". En: 69th Scientific Sessions; Abstract; (Vol. 5). Arlington County, VA, USA: American Diabetes Association.
- Bosch, D.; Castilho, A.; Loos, A.; Schots, A.; Steinkellner, H. (2013). "N-glycosylation of plant-produced recombinant proteins". *Curr Pharm Des.* 19: 5503-5512.
- Bourgoin, E.; Charron, P. (2003). "Orbital hydroponic or aeroponic agricultural unit". US7181886B2 Patent.
- Breyer, D.; Goossen, M.; Herman, P.; Sneyers, M. (2009). "Biosafety considerations associated with molecular farming in genetically modified plants". *J. Med. Plants Res.* 3: 825-838.
- Brodzik, R.; Spitsin, S.; Pogrebnyak, N.; Bandurska, K.; Portocarrero, K.; Andryszak, K.; Korpowski, H.; Golovkin, M. (2009). "Generation of plant-derived recombinant DTP subunit vaccine". *Vaccine* 27: 3730-3734.
- Buyel, J.; Fischer, R. (2014). "Downstream processing of biopharmaceutical proteins produced in plants". *Bioengineered* 5(2): 138-142.
- Buyel, J.F.; Twyman, M.; Fischer, R. (2017). "Very-large-scale production of antibodies in plants: the biologization of manufacturing". *Biotechnol Adv* 35: 458-465.
- Buyel, J. (2018). "Plant molecular farming—Integration and exploitation of side streams to achieve sustainable biomanufacturing". *Front. Plant Sci.* 9: 1893.
- Buyel, J. (2019). "Plant Molecular Farming-Integration and Exploitation of Side Streams to Achieve Sustainable Biomanufacturing". *Frontiers in Plant Science* 9, doi: 10.3389/fpls.2018.01893
- Capell, T.; Twyman, R.; Armario-Najera, V.; Ma, J.; Schillberg, S.; Christou, P. (2020). "Potential applications of plant biotechnology against SARS-CoV-2". *Trends Plant Sci.* 25: 635-643.
- Čeřovská, N.; Hoffmeisterová, H.; Pečenková, T.; Moravec, T.; Synková, H.; Plchová, H.; Velemínský, J. (2008). "Transient expression of HPV16 E7 peptide (aa 44–60) and HPV16 L2 peptide (aa 108–120) on chimeric potyvirus-like particles using Potato virus X-based vector". *Protein Expression and Purification* 58(1): 154-161.
- Chan, H.; Xiao, Y.; Weldon, W.; Oberste, S.; Chumakov, K.; Daniell, H. (2016). "Cold chain and virus-free chloroplast-made booster vaccine to confer immunity against different poliovirus serotypes". *Plant Biotechnol. J.* 14: 2190-2200.

- Chen, T.L.; Lin, Y.L.; Lee, Y.L.; Yang, N.S.; Chan, M.T. (2004). "Expression of bioactive human interferon-gamma in transgenic rice cell suspension cultures". *Transgenic Res.* 13: 499-510.
- Chen, Y.; Wang, A.; Zhao, L.; Shen, G.; Cui, L.; Tang, K. (2009). "Expression of thymosin 1 concatemer in transgenic tomato (*Solanum lycopersicum*) fruits". *Biotechnol. Appl. Biotechnol. Appl. Biochem.* 52: 303-312.
- Chen, Q.; Lai, H.; Hurtado, J.; Stahnke, J.; Leuzinger, K.; Den, M. (2013). "Agroinfiltration as an effective and scalable strategy of gene delivery for production of pharmaceutical proteins." *Adv Tech Biol Med.* 1: 103.
- Chen, Q.; Davis, K. (2016). "The potential of plants as a system for the development and production of human biologics". *F1000Research* 12: e1587.
- Chung, N.D.; Kim, N.S.; Van Giap, D.; Jang, S.H.; Oh, S.M.; Jang, S.H.; Kim, T.G.; Jang, Y.S.; Yang, M.S. (2014). "Production of functional human vascular endothelial growth factor165 in transgenic rice cell suspension cultures". *Enzym. Microb. Technol.* 63: 58-63.
- Circelli, P.; Donini, M.; Villani, M.E.; Benvenuto, E.; Marusic, C. (2010). "Efficient *Agrobacterium*-based transient expression system for the production of biopharmaceuticals in plants". *Bioeng Bugs* 1: 221-224.
- Corbin, J.M.; Hashimoto, B.I.; Karuppanan, K.; Kyser, Z.R.; Wu, L.; Roberts, B.A.; Noe, A.R.; Rodríguez, R.L.; McDonald, K.A.; Nandi, S. (2016). "Semicontinuous bioreactor production of recombinant butyrylcholinesterase in transgenic rice cell suspension cultures". *Front. Plant Sci.* 7: 412.
- Cunha, N.; Murad, A.; Ramos, G.; Maranhão, A.; Brígido, M.; Araújo, A.; y col. (2011). "Accumulation of functional recombinant human coagulation factor IX in transgenic soybean seeds". *Transgenic Res.* 20 (4): 841-855.
- D' Aoust, M.-A.; Couture, M.-J.; Charland, N.; Trépanier, S.; Landr, N.; Ors, F.; Vézina, L.-P. (2010) "The production of hemagglutinin-based virus-like particles in plants: a rapid, efficient and safe response to pandemic influenza". *Plant Biotechnol. J.* 8: 607-619.
- Daniell, H.; Datta, R.; Varma, S.; Gray, S.; Lee, S.-B. (1998). "Containment of herbicide resistance through genetic engineering of the chloroplast genome". *Nat. Biotechnol.* 16: 345.
- Daniell, H.; Lee, S.-B.; Panchal, T.; Wiebe, P. (2001). "Expression of the native cholera toxin b subunit gene and assembly as functional oligomers in transgenic tobacco chloroplasts". *J. Mol. Biol.* 311: 1001-1009.
- Daskalova, S.M.; Radder, J.E.; Cichacz, Z.A.; Olsen, S.H.; Tsaprilis, G.; Mason, H.; Lopez, L.C. (2010). "Engineering of *N. benthamiana* L. plants for production of N-acetylgalactosamine-glycosylated proteins – towards development of a plant-based platform for production of protein therapeutics with mucin type O-glycosylation". *BMC Biotechnol.* 10 62 10.1186/1472-6750-10-62
- De la Riva, G.; González-Cabrera, J.; Vázquez-Padrón, R.; Ayra-Prado, C. (1998). "*Agrobacterium tumefaciens*: a natural tool for Plant transformation". *Electronic Journal of Biotechnology* (1): 3.
- De Muynck B.; Navarre, Y.; Boutry, M. (2010). "Production of antibodies in plants: status after twenty years". *Plant Biotechnology Journal* 8 (5): 529-563.
- Donini, M.; Marusic, C. (2019). "Current state-of-the-art in plant-based antibody production systems". *Biotechnol. Lett.* [https://doi.org/10.1007/s10529-019-02651-z\(0123456789\(0,-volV\)0123456789\(0,-volV\)](https://doi.org/10.1007/s10529-019-02651-z(0123456789(0,-volV)0123456789(0,-volV)).
- Floss, D.; Mockey, M.; Zanello, G.; Brosson, D.; Diogon, M.; Frutos, R.; y col. (2010). "Expression and immunogenicity of the mycobacterial ag85b/esat-6 antigens produced in transgenic plants by elastin-like peptide fusion strategy". *BioMed Res. Int.* <https://doi.org/10.1155/2010/274346>.
- Gavilondo, J.V.; Larrick, J.W. (2000). "Antibody engineering at the millennium". *BioTechniques* 29: 128-132.
- Eibl, R.; Kaiser, S.; Lombriser, R.; Eibl, D. (2010). "Disposable bioreactors: The current stateofheart and recommended applications in biotechnology". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86: 41-49.
- Eibl, R.; Eibl, D. (2008). "Design of bioreactors suitable for plant cell and tissue cultures". *Phytochem. Rev.* 7: 593-598.
- Floss, D.M.; Mockey, M.; Zanello, G.; Brosson, D.; Diogon, M.; Frutos, R.; Bruel, T.; Rodrigues, V.; Garzon, E.; Chevaleyre, C.; Berri, M.; Salmon, H.; Conrad, U.; Dedieu, L. (2010) Expression and immunogenicity of the mycobacterial Ag85B/ESAT-6 antigens produced in transgenic plants by elastin-like peptide fusion strategy. *J Biomed Biotechnol* 2010:274346.
- Fox, J. (2012). "First plant-made biological approved". *Nat. Biotechnol.* 30:472.
- Fujiuchi, N.; Matsuda, R.; Matoba, N.; Fujiwara, K. (2016). "Removal of bacterial suspension water occupying the intercellular space of detached leaves after agroinfiltration improves the yield of recombinant hemagglutinin in a *Nicotiana benthamiana* transient gene expression system". *Biotechnol. Bioeng.* 113: 901-906.
- Gils, M.; Kandzia, R.; Marillonnet, S.; Klimyuk, V.; Gleba, Y. (2005). "Highyield production of authentic human growth hormone using a plant virusbased expression system". *Plant Biotechnology Journal* 3: 613-620.
- Giritch, A.; Marillonnet, S.; Engler, C.; van Eldik, G.; Botterman, J.; Klimyuk, V.; Gleba, Y. (2006). "Rapid high-yield expression of full-size IgG antibodies in plants coinfectd with non-competing viral vectors". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103: 14701-14706.
- Gomes, M.; Alvarez, M.A.; Ramos Quellis, L.; Laguia Becher, M.; Andrade Castro, J.; Gameiro, J.; Caporrino, M.C.; Moura-da-Silva, A.M.; Oliveira Santos, M. (2019). "Expression of an scFv antibody fragment in *Nicotiana benthamiana* and *in vitro* assessment of its neutralizing potential against the snake venom metalloproteinase BaP1 from *Bothrops asper*". *Toxicon* 160: 38-46.
- Gomord, V.; Fitchette, A.; Menu-Bouaouiche, L.; Saint-Jore-Dupas, C.; Plasson, C.; Michaud, D.; Faye, L. (2010). "Plant-specific glycosylation patterns in the context of therapeutic protein production". *Plant Biotechnology Journal* 8: 564-587.
- Grabowski, G.; Golembó, M.; Shaaltiel, Y. (2014). "Taliglucerase alfa: an enzyme replacement therapy using plant cell expression technology." *Mol Genet Metab* 112 (1): 1-8
- Gurusamy, P.; Schafer, H.; Ramamoorthy, S.; Wink, M. (2017). "Biologically active recombinanthuman erythropoietin expressed in hairy root cultures and regenerated plantlets of *Nicotiana tabacum* L". *PLoS ONE* 12: e0182367.



- Gutierrez-Valdes, N.; Häkkinen, S.; Lemasson, C.; Guillet, M.; Oksman-Caldentey, K.-M.; Ritala, A.; Cardon, F. (2020). "Hairy root cultures—A versatile tool with multiple applications". *Front. Plant Sci.* 11: 33.
- Häkkinen, S.T.; Raven, N.; Henquet, M.; Laukkanen, M.L.; Anderlei, T.; Pitkänen, J.P.; Twyman, R.M.; Bosch, D.; Oksman-Caldentey, K.M.; Schillberg, S.; Ritala, A. (2014). "Molecular farming in tobacco hairy roots by triggering the secretion of a pharmaceutical antibody". *Biotechnol. Bioeng.* 111: 336-346.
- Hauptman, V.; Menzel, M.; Weichart, N.; Reimers, K.; Spohn, U.; Conrad, U. (2015). "Production of spider silk proteins in tobacco and potato". *BMC Biotechnology* (15) DOI 10.1186/s12896-015-0123-2.
- Hendin, H.; Pillet, S.; Lara, A.N.; Wu, C.-Y.; Charland, N.; Landry, N.; Waard, B.J. (2017). "Plant-made virus-like particle vaccines bearing the hemagglutinin of either seasonal (H1) or avian (H5) influenza have distinct patterns of interaction with human immune cells *in vitro*". *Vaccine* 35: 2592-2599.
- Herrera-Estrella, L.; Depicker, A.; Van Montagu, M.; Schell, J. (1983). "Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector". *Nature* 303: 209-213.
- Hiatt, A.C.; Cafferkey, R.; Bowdish, K. (1989) Production of antibodies in transgenic plants. *Nature* 342: 76-78.
- Hodgins, B.; Pillet, S.; Landry, N.; Ward, B. (2019). "Prime-pull vaccination with a plant-derived virus-like particle influenza vaccine elicits a broad immune response and protects aged mice from death and frailty after challenge". *Immunity & Ageing* (16), 27 <https://doi.org/10.1186/s12979-019-0167-6>.
- Holland, T.; Buyel, J. (2018). "Bioreactorbased production of glycoproteins in plant cell suspension cultures". En: *Recombinant Glycoprotein Production*. Berlin, Alemania: Springer.
- Hood, E.; Witcher, D.; Maddock, S.; Meyer, T.; Baszczynski, C.; y col. (1997). "Commercial production of avidin from transgenic maize: Characterization of transformant, production, processing, extraction and purification". *Mol. Breed.* 3: 291-306.
- Huang, J.; Nandi, S.; Wu, L.; Yalda, D.; Bartley, G.; Rodriguez, R.; Lonnerdal, B.; Huang, N. (2002). "Expression of natural antimicrobial human lysozyme in rice grains". *Mol. Breed.* 10: 83-94.
- Huang, L.F.; Liu, Y.K.; Lu, C.A.; Hsieh, S.L.; Yu, S.M. (2005). "Production of human serum albumin by sugar starvation induced promoter and rice cell culture". *Transgenic Res.* 14: 569-581.
- Huang, T.K.; McDonald, K. (2009). "Bioreactor engineering for recombinant protein production in plant cell suspension cultures". *Biochem. Eng. J.* 45: 168-184.
- Islam, M.; Kim, N.S.; Jung, J.W.; Kim, H.B.; Han, S.C.; Yang, M.S. (2018). "Spontaneous pepsin catalyzed activation of human pepsinogen c in transgenic rice cell suspension culture: Production and characterization of human pepsin c". *Enzym. Microb. Technol.* 108: 66-73.
- Jin, C.; Altmann, F.; Strasser, R. (2008). "A plant derived human monoclonal antibody induces an anti-carbohydrate immune response in rabbits". *Glycobiology* 18: 235-241.
- Jin, S.; Daniell, H. (2015). "The engineered chloroplast genome just got smarter". *Trends Plant Sci.* 20: 622-640.
- Joensuu, J.; Conley, A.; Lienemann, M.; Brandle, J.; Linder, M.; Menassa R. (2010). "Hydrophobin fusions for high-level transient protein expression and purification in *Nicotiana benthamiana*". *Plant Physiol.* 152: 622-633.
- Juárez, P.; Virdi, V.; Depicker, A.; Orzaez, D. (2016). "Biomanufacturing of protective antibodies and other therapeutics in edible plant tissues for oral applications". *Plant Biotechnology Journal* 1-9.
- Kaiser, J. (2008) "Is the drought over for pharming?" *Science* 320: 473-475.
- Kang, T.J.; Lee, W.S.; Choi, E.G.; Kim, J.W.; Kim, B.G.; Yang, M.S. (2006). "Mass production of somatic embryos expressing *Escherichia coli* heatlabile enterotoxin b subunit in siberian ginseng". *J. Biotechnol.* 121: 124-133.
- Karimi, M.; Inzé, D.; Depicker, A. (2002). "GATEWAY vector for *Agrobacterium*-mediated plant transformation". *Trends Plant Sci.* 7 (5): 193-195.
- Kashima, K.; Yuki, Y.; Mejima, M.; Kurokawa, S.; Suzuki, Y.; Minakawa, S.; y col. (2016). "Good manufacturing practices production of a purificationfree oral cholera vaccine expressed in transgenic rice plants". *Plant Cell Rep.* 35: 667-679.
- Kim, Y.S.; Kim, B.G.; Kim, T.G.; Kang, T.J.; Yang, M.S. (2006). "Expression of a cholera toxin b subunit in transgenic lettuce (*Lactuca sativa* L.) using *Agrobacterium*-mediated transformation system". *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 87: 203-210.
- Kim, T.G.; Baek, M.Y.; Lee, E.K.; Kwon, T.H.; Yang, M.S. (2008). "Expression of human growth hormone in transgenic rice cell suspension culture". *Plant Cell Rep.* 27: 885-891.
- Kim, N.S.; Yu, H.Y.; Chung, N.D.; Shin, Y.J.; Kwon, T.H.; Yang, M.S. (2011). "Production of functional recombinant bovine trypsin in transgenic rice cell suspension cultures". *Protein Expr. Purif.* 76: 121-126.
- Kiyono, H.; Azegami, T. (2015). "The mucosal immune system: From dentistry to vaccine development". *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* 91 (8): 423-439.
- Kizhner, T.; Azulay, Y.; Hainrichson, M.; Tekoah, Y.; Arvat, G.; Shulman, A.; Ruderfer, I.; Aviezer, D.; Shaatiel, Y. (2015). "Characterization of a chemically modified plant cell culture expressed human -Galactosidase-A enzyme for treatment of Fabry disease". *Mol. Genet. Metabol.* 114: 259-267.
- Klimyuk, V.; Pogue, G.; Herz, S.; Butler, J.; Haydon, H. (2014). "Production of recombinant antigens and antibodies in *Nicotiana benthamiana* using 'magniflection' technology: GMP compliant facilities for small- and large-scale manufacturing". *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 375: 127-154.
- Kozai, T.; Afreen, F.; Zobayed, S.P. (2005). *Photoautotrophic (Sugar Free Medium) Micropropagation as a New Micropropagation and Transplant Production System*. Berlin, Alemania: Springer Science & Business Media.
- Kurup, V.; Thomas, J. (2020). "Edible Vaccines: Promises and Challenges. *Molecular Biotechnology*" 62: 79-90.
- Laguia Becher, M.; Zaldua, Z.; Xu, W.; Macroni, P.; Velandier, W.; Alvarez M.A. (2019). "Co-expressing Turnip Crinkle Virus-coat protein with the serine protease alpha-thrombin precursor (pFIIa) in *Nicotiana benthamiana* Domin". *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 55 (1): 88-98.

- Lakshmi, P.; Verma, D.; Yang, X.; Lloyd, B.; Daniell, H. (2013). "Low cost tuberculosis vaccine antigens in capsules: Expression in chloroplasts, bio-encapsulation, stability and functional evaluation *in vitro*". *PLoS ONE* 8, e54708.
- Lim, J.A.C.; Patkar, A.; McDonagh, G. (2010). "Modeling bioprocess cost: process economic benefits of expression technology based on *Pseudomonas fluorescens*". 8: 62-70.
- Liu, Y.K.; Li, Y.T.; Lu, C.F.; Huang, L.F. (2015). "Enhancement of recombinant human serum albumin in transgenic rice cell culture system by cultivation strategy". *New Biotechnol.* 32: 328-334.
- Loh, H.S. G.; Yusibov, V. (2017). "Using transgenic plants and modified plant viruses for the development of treatments for human diseases." *Current Opinion in Virology* 26: 81-89.
- Lonoce, C.; Marusic, C.; Morrocchi, E.; Salzano, A.M.; Scaloni, A.; Novelli, F.; Pioli, C.; Feeney, M.; Frigerio, L.; Donini, M. (2018). "Enhancing the secretion of a glyco-engineered anti-CD20 scFv-Fc antibody in hairy root cultures". *Biotechnol J.* <https://doi.org/10.1002/biot.201800081>.
- López, J.; Lencina, F.; Petruccielli, S.; Marconi, P.; Alvarez, M.A. (2010). "Influence of the KDEL signal, DMSO and mannitol on the production of the recombinant antibody 14D9 by long-term *Nicotiana tabacum* cell suspension culture". *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 103: 307-314.
- Lu, C.A.; Lim, E.K.; Yu, S.M. (1998). "Sugar response sequence in the promoter of a rice  $\alpha$ -amylase gene serves as a transcriptional enhancer". *J. Biol. Chem.* 273: 10120-10131.
- Ma, J.K.; Hiatt, A.; Hein, M.; Vine, N.D.; Wang, F.; Stabila, P.; Van Dolleweerd, C.; Mostov, K.; Lehner, T. (1995). "Generation and assembly of secretory antibodies in plants". *Science* 268: 716-719.
- Ma, J.-C.; Hikmat, B.Y.; Wycoff, K.; Vine, N.; Chargelegue, D.; Yu, L.; Hein, M.B.; Lehner, T. (1998). "Characterization of a recombinant plant monoclonal secretory antibody and preventive immunotherapy in humans". *Nature Med.* 4: 601-606.
- Ma, J.C.; Drossard, J.; Lewis, D.; Altmann, F.; Boyle, J.; Christou, P.; y col. (2015). "Regulatory approval and a first-in-human phase I clinical trial of a monoclonal antibody produced in transgenic tobacco plants". *Plant Biotechnol. J.* 13: 1106-1120.
- Magnusdottir, A.; Vidarsson, H.; Björnsson, J.; Örvar, B. (2013). "Barley grains for the production of endotoxin free growth factors". *Trends Biotechnol.* 31: 572-580.
- Maliga, P. (2002) "Engineering the plastid genome of higher plants". *Curr. Opin. Plant Biol.* 5:164-172.
- Marillonnet, S.G.; Gils, M.; Kandzia, R.; Klimyuk, V.; Gleba, Y. (2004). *In planta* engineering of viral RNA replicons: efficient assembly by recombination of DNA modules delivered by *Agrobacterium*." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 6852-6857.
- Martínez, C.; Petruccielli, S.; Giulietti, A.; Alvarez, M.A. (2005). "Expression of the antibody 14D9 in *Nicotiana tabacum* hairy roots". *Electronic Journal of Biotechnology* 8 (2): 170-176.
- Matsuda, R.; Kubota, C.; Alvarez, M.; Cardineau, G. (2009). "Biopharmaceutical protein production under controlled environments: Growth, development, and vaccine productivity of transgenic tomato plants grown hydroponically in a greenhouse". *HortScience* 44: 1594-1599.
- Matsuda, R.; Kubota, C.; Alvarez, M.; Cardineau, G. (2010). "Determining the optimal timing of fruit harvest in transgenic tomato expressing F1V, a candidate subunit vaccine against plague". *HortScience* 45: 347-351.
- Matsuda, R.; Kubota, C.; Alvarez, M.; Cardineau, G. (2012). "Effect of high electrical conductivity of hydroponic nutrient solution on vaccine protein content in transgenic tomato". *Hort-Technology* 22: 362-367.
- McDonald, K.; Hong, L.; Trombly, D.; Xie, Q.; Jackman, A. (2005). "Production of human  $\alpha$ -1-antitrypsin from transgenic rice cell culture in a membrane bioreactor". *Biotechnol. Prog.*, 21: 728-734.
- McPherson, M.; Yang, R.C.; Good, A.; Nielson, R.; Hall, L. (2009). "Potential for seed-mediated gene flow in agroecosystems from transgenic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) intended for plant molecular farming". *Transgenic Res.* 18: 281-299.
- Medrano, G.; Reidy, M.; Liu, J.; Ayala, J.; Dolan, M.; Cramer, C. (2009). "Rapid System for Evaluating Bioproduction Capacity of Complex Pharmaceutical Proteins in Plants". In: L. F. (eds.), *Methods in Molecular Biology, Recombinant Proteins From Plants* (Vol. 483). © Humana Press, a part of Springer Science + Business Media, LLC
- Menassa, R.; Nguyen, V.; Jevnikar, A.; Brandle, J. (2001). "A self-contained system for the field production of plant recombinant interleukin-10". *Molecular Breeding* 8: 177-185.
- Mohebodini, M.; Jalali-Javaran, M.; Alizadeh, H.; Mahboudi, F.; Yarbakht, M. (2014). "Agrobacterium-mediated transformation of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to express igg-binding protein a and human pro-insulin as a fusion protein". *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 89: 719-725.
- Moloney, M.; Boothe, J.; Keon, R.; Nykiforuk, C.; Van Rooijie, G. (2009). "Methods for production of insulin in plants" US Patent 7,547,82106 16.
- Montero-Morales, L.; Steinkellner, H. (2018). "Advances plant-based glycan engineering". *Front. Bioeng. Biotechnol.* 6:81.
- Moon, K.; Park, J.; Park, Y.; Song, I.; Lee, H.; Cho, H.; Jeon, J.H.; Kim, H.-S. (2020). "Development of Systems for the Production of Plant-Derived Biopharmaceuticals". *MDPI Plants* 9(30).
- Mor, T. (2015) "Molecular pharming's foot in the FDA's door: Protalix's trailblazing story". *Biotechnol. Lett.* 37: 2147-2150.
- Nandi, S.; Suzuki, Y.; Huang, J.; Yalda, D.; Pham, P.; Wu, L.; Bartley, G.; Huang, N.; Lönnnerdal, B. (2002). "Expression of human lactoferrin in transgenic rice grains for the application in infant formula". *Plant Sci.* 163: 713-722.
- Nelson, G.; Marconi, P.; Periolo, O.; La Torre, J.; Alvarez, M.A. (2012). "Immunocompetent truncated E2 glycoprotein of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) expressed in *Nicotiana tabacum* plants: a candidate antigen for new generation of veterinary vaccines". *Vaccine* 30: 4499-4504
- Nochi, T.; Takagi, H.; Yuki, Y.; Yang, L.; Masumura, T.; Mejima, M.; y col. (2007). "Ricebased mucosal vaccine as a global strategy for coldchainand needlefree vaccination". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104: 10986-10991.
- Palacio-Bielsa, A.; González-Abolafio, R.; Alvarez, B.; Lastra, B.; Cambra, M.; y col. (2009) "Chromosomal and Ti plasmid characterization of tumorigenic strains of three *Agrobacterium* species isolated from grapevine tumors". *Plant Pathology* 58: 584-593.

- Pastores, G.; Petakov, M.; Giraldo, P.; Rosenbaum, H.; Szer, J.; Deegan, P.; y col. (2014). "A Phase 3, multicenter, open-label, switchover trial to assess the safety and efficacy of taliglucerase alfa, a plant cell-expressed recombinant human glucocerebrosidase, in adult and pediatric patients with Gaucher disease previously treated with imiglucerase". *Blood Cells Mol Dis* 53 (4): 253-260.
- Paul, M.; Ma, J. (2011). "Plant-made pharmaceuticals: leading products and production platforms". *Biotechnology and Applied Biochemistry* 58-67.
- Paul, M.; Reljic, R.; Klein, K.; Drake, P.; van Dolleweerd, C.; Pabst M.; y col. (2014). "Characterization of a plantproduced recombinant human secretory IgA with broad neutralizing activity against HIV". *mAbs* 6: 1585-1597.
- Pêra, F.; Mutepefa, D.; Khan, A.; Els, J.; Mbewana, S.; van Dijk, A.; Rybicki, E.P.; Hitzeroth, I. (2015). "Engineering and expression of a human rotavirus candidate vaccine in *Nicotiana benthamiana*". *Virology Journal* 12, 205 DOI 10.1186/s12985-015-0436-8
- Pillet, S.; Couillard, J.; Trépanier, S.; Poulin, J.; Yassine-Diab, B.; Guy, B.; Ward, B.J.; Landry, N. (2019). "Immunogenicity and safety of a quadrivalent plant derived virus like particle influenza vaccine candidate—Two randomized Phase II clinical trials in 18 to 49 and > 50 years old adults". *PLoS ONE* 14(6), e0216533. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216533>.
- Qiu, X.; Wong, G.; Audet, J.; Bello, A.; Fernando, L.; Alimonti, J.; y col. (2014). "Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp". *Nature* 514: 47-53.
- Rademacher, T.; Sack, M.; Arcalis, E.; Stadlmann, J.; Balzer, S.; Altmann, F.; Quendler, H.; Stiegler, G.; Kunert, R.; Fischer, R.; Stoger, E. (2008) Recombinant antibody 2G12 produced in maize endosperm efficiently neutralize HIV-1 and contains predominantly singleGlcNAc N-glycans. *Plant Biotechnol J* 6:189–201.
- Rademacher, T.; Sack, M.; Blessing, D.; Fischer, R.; Holland, T.; Buyel, J. (2019). "Plant cell packs: a scalable platform for recombinant protein production and metabolic engineering". *Plant Biotechnol. J.* 17: 1560-1566.
- RosalesMendoza, S.; TelloOlea, M. (2015). "Carrot cells: A pioneering platform for biopharmaceuticals production". *Mol. Biotechnol.* 57: 219-232.
- Ruf, S.; Karcher, D.; Bock, R. (2007). "Determining the transgene containment level provided by chloroplast transformation". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104, 6998-7002.
- Ruhlman, T.; Verma, D.; Samson, N.; Daniell, H. (2010). "The role of heterologous chloroplast sequence elements in transgene integration and expression". *Plant Physiol.* 152: 2088-2104.
- Santos, R.; Abranches, R.; Fischer, R.; Sack, M.; Holland, T. (2016). "Putting the spotlight back on plant suspension cultures". *Front. Front. Plant Sci.* 7: 297.
- Schell, J.; Van Montagu, M. (1977). "The Ti plasmid of *Agrobacterium tumefaciens*, a natural vector for the introduction of *nif* genes in plants?" *Genetic Engineering for Nitrogen Fixation* 159-179.
- Schillberg, S.; Raven, N.; Fischer, R.; Twyman, R.M.; Schiermeyer, A. (2013). "Molecular farming of pharmaceutical proteins using plant suspension cell and tissue cultures". *Curr. Pharm. Des.* 19: 5531-5542.
- Sedeghati, B.; Haddad, R.; Bandhpour, M. (2020). "Transient expression of human serum albumin (HSA) in tobacco leaves". *Molecular Biology Reports* <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05640-y>.
- Sharma, A.; Sharma, M. (2009). "Plants as bioreactors: Recent developments and emerging opportunities". *Biotechnology Advances* 27: 811-832.
- Shanmugaraj, B.; Bulaon, C.; Phoolcharoen, W. (2020). "Plant Molecular Farming: A Viable Platform for Recombinant Biopharmaceutical Production". *MDPI Plants* 9: 842-861.
- Shelduki, Y. (2008). "Agrobacterium-mediated transient expression as an approach to production of recombinant proteins in plants". *Recent Pat. Biotechnol.* 2: 198-208.
- Shin, Y.J.; Hong, S.Y.; Kwon, T.H.; Jang, Y.S.; Yang, M.S. (2003) High level of expression of recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor in transgenic rice cell suspension culture. *Biotechnology and Bioengineering* 82 (7): 778-783
- Sijmons, P.C.; Dekker, B.; Schrammeijer, B.; Verwoerd, T.C.; van den Eizen, P.J.M.; Hoekema, A. (1990). "Production of correctly processed human serum albumin in transgenic plants". *Bio/ Technology* 8: 217-221.
- Strasser, R.; Stadlmann, J.; Schahs, M.; Stiegler, G.; Quendler, H.; Mach, L.; Glössl, J.; Weterings, K.; Pabst, M.; Steinkellner, H. (2008). "Generation of glyco-engineered *Nicotiana benthamiana* for the production of monoclonal antibodies with a homogeneous human-like N-glycan structure". *Plant Biotechnol. J.* 6: 392-402.
- Steinkellner, H; Castilho, A. (2015). "N-Glyco-engineering in plants: update on strategies and major achievements". *Methods Mo.l Biol.* 1321: 195-212.
- Stoger, E.; Sack, M.; Perrin, Y.; Vaquero, C.; Torres, E.; Twyman, R.; Christou, P.; Fischer, R. (2002). "Practical considerations for pharmaceutical antibody production in different crop systems". *Mol. Breed.* 9: 149-158.
- Su, J.; Zhu, L.; Sherman, A.; Wang, X.; Lin, S.; Kamesh, A.; y col. (2015). "Low cost industrial production of coagulation factor IX bioencapsulated in lettuce cells for oral tolerance induction in hemophilia B". *Biomaterials* 70: 84-93.
- Suslow, T.; Thomas, B.R.; Bradford, K.J. (2002). "Biotechnology provides new tools for planting". University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Publication 8043. <https://doi.org/10.3733/ucanr.8043>
- Svab, Z.; Maliga, P. (2007). "Exceptional transmission of plastids and mitochondria from the transplastomic pollen parent and its impact on transgene containment". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104: 7003-7008.
- Tabayashi, N.; Matsumura, T. (2014). "Forefront study of plant biotechnology for practical use: Development of oral drug for animal derived from transgenic strawberry." *Soc. Biotechnol. J. Japan* 92: 537-539.
- Tekoah, Y.; Shulman, A.; Kishner, T.; Ruderfer, I.; Fux, L.; Nataf, Y.; y col. (2015). "Large-scale production of pharmaceutical proteins in plant cell culture—the Protalix experience". *Plant Biotechnol. J.* 13: 1199-1208.

- Testa, D.; Liao, M.-J.; Ferencz-Biro, K.; Rashidbaigi, A.; DiPaola, M. (1997) Composition Containing Human Alpha Interferon Species Proteins and Method for Use Thereof. U.S. Patent 5,676,942, 14 October 1997.
- Thanavala, Y.; Mahoney, M.; Pal, S.; Scott, A.; Richter, L.; Natarajan, N.; y col. (2005). "Immunogenicity in humans of an edible vaccine for hepatitis b". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 102: 3378-3382.
- Tokuhara, D.; Álvarez, B.; Mejima, M.; Hiroiwa, T.; Takahashi, Y.; Kurokawa, S.; y col.; (2013). "Ricebased oral antibody fragment prophylaxis and therapy against rotavirus infection". *J. Clin. Investig.* 123: 3829-3838.
- Tremblay, R.; Wang, D.; Jevnikar, A.; Ma, S. (2010). "Tobacco, a highly efficient green bioreactor for production of therapeutic proteins". *Biotechnol. Adv.* 28 (2): 214-221.
- Tusé, D.; Ku, N.; Bendandi, M.; Becerra, C.; Collins, Jr. R.; Langford, N.; Inogés Sancho, S., y col. (2015). "Clinical safety and immunogenicity of tumor-targeted, plant-made Id-KLH conjugate vaccines for follicular lymphoma". *Biomed Res Int* 648 143. doi: 10.1155/2015/648143.
- Vermij, P.; Waltz, E. (2006). "USDA approves the first plantbased vaccine". *Nat. Biotechnol.* 24: 234.
- Weintraub, J.A.; Hilton, J.; White, J.M.; Hoover, C.I.; Wycoff, K.L.; Yu, L.; Larrick, J.W.; Featherstone, J.D.B. (2005). "Clinical trial of a plant-derived antibody on recolonization of mutans streptococci". *Caries Res.* 39: 241-250.
- Witcher, D.; Hood, E.; Peterson, D.; Bailey, M.; Bond, D.; Kusnadi, A.; y col. (1998). "Commercial production of  $\beta$ -glucuronidase (GUS): A model system for the production of proteins in plants". *Mol. Breed.* 4: 301-312.
- Wolternik-van Loo, S.; Ayala, A.; Hooykaas, P.; van Heusden, G. (2015). "Interaction of the *Agrobacterium tumefaciens* virulence protein VurD2 with histones". *Microbiology* 161(Pt2): 401-410.
- Wongsamuth, R.; Doran, P. (1997). "Production of monoclonal antibodies by tobacco hairy roots". *Biotechnol. Bioeng.* 54: 401-415.
- Woodard, S.; Mayor, J.; Bailey, M.; Barker, D.; Love, R.; Lane, J. y col. (2003). "Maize (*Zea mays*)-derived bovine trypsin: Characterization of the first large-scale, commercial protein product from transgenic plants". *Biotechnol. Appl. Biochem.* 38: 123-130.
- Xu, J.; Dolan, M. (2011). "Towards high-yield production of pharmaceutical proteins with plant cell suspension cultures." *Biotechnol. Adv.* 20: 278-299.
- Xu, J.; Dolan, M.C.; Medrano, G.; Cramer, C.L.; Weathers, P.J. (2012). "Green factory: plants as bioproduction platforms for recombinant proteins". *Biotechnol Adv.* 30: 1171-1184.
- Yamaki, S.; Hachimura, H.; Ogawa, M.; Kanegae, S.; Sugimoto, T.; Amimoti, A. (2020). "Long-term follow-up study after administration of a canine interferon- alpha preparation for feline gingivitis". *The Journal of Veterinary Medical Science*, 232-236.
- Yu, D.; McLean, M.; Hall, C.; Ghosh, R. (2008). "Purification of a human immunoglobulin G<sub>1</sub> monoclonal antibody from transgenic tobacco using membrane chromatographic processes". *Journal of Chromatography A* 1187: 128-137.
- Yusibov, V.; Rabindran, S. (2008). "Recent progress in the development of plant derived vaccines". *Expert Rev. Vaccines* 7: 1173-1183.
- Yusibov, V.; Mamedov, T. (2010). "Plant as an Alternative System for Expression of Vaccine Antigens". *Proceedings of ANAS (Biological Sciences)* 65(5-6): 195-200.
- Zambryski, P. (2013). "Fundamental discoveries and simple recombination between circular plasmid DNAs led to widespread use of *Agrobacterium tumefaciens* as a generalized vector for plant genetic engineering". *Int. J. Dev. Biol.* 57: 449-452.
- Zhang, Y.; Lee, C.; Wehner, N.; Imdahl, F.; Svetlana, V.; Weiste, C.; Dröge-Laser, W.; Deeken, R. (2015). "Regulation of oncogene expression in T-DNA-transformed host plant cells". *PLOS Pathogens* 11(1): e1004620. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004620>.
- Zhang, B.; Shanmugaraj, B.; Daniell, H. (2017). "Expression and functional evaluation of biopharmaceuticals made in plant chloroplasts". *Curr. Opin. Chem. Biol.* 38: 17-23.
- Zischewski, J.; Sack, M.; Fischer, R. (2016). "Overcoming low yields of plant-made antibodies by a protein engineering approach". *Biotechnol J.* 11: 107-116.



## Características y contenido de extractivos del leño de *Discaria chacaye* y *Ochetophila trinervis* (Rhamnaceae) de zonas de ecotono del suroeste de la provincia de Neuquén

Andrea Alejandra Medina\*, Antonela Pampiglioni, Evelyn Riquelme

Universidad Nacional del Comahue. Pasaje de La Paz 235, 8370 San Martín de los Andes, Neuquén, República Argentina.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia: [andrepampa@yahoo.com.ar](mailto:andrepampa@yahoo.com.ar)

### Resumen

En los ambientes de ecotono entre los bosques y la estepa en Patagonia, destacados por presentar alta biodiversidad y afectados históricamente por diversas actividades humanas, se presentan dos valiosas especies leñosas: *Discaria chacaye* y *Ochetophila trinervis* (Rhamnaceae) muy utilizadas para leña y con gran importancia ecológica, social y cultural en la región. Con el objetivo de realizar un aporte al conocimiento del leño de estas especies se aprovechó madera de ejemplares adultos extraídos para leña en cercanías a San Martín de los Andes, suroeste de la provincia de Neuquén, República Argentina. Se elaboraron tablas, cubos, cortes microscópicos y macerados para la determinación de características estéticas, macroscópicas, microscópicas, propiedades físicas (densidad y contenido de humedad de equilibrio higroscópico) y de contenido de extractivos del leño. Los caracteres estéticos y macroscópicos de la madera de las dos especies indican su aptitud para usos en artesanías y trabajos con piezas de poca talla. Las características anatómicas señalan alta seguridad conductiva y especialización del leño de ambas especies a situaciones de estrés hídrico o térmico. La alta densidad de la madera explica en gran parte su preferencia para el uso como combustible en relación a otras especies leñosas de la región. El contenido de extractivos de la madera de ambas especies (14 %) fue levemente mayor al reportado para especies de climas templados. Consideramos que la presente información podrá ser de utilidad para futuros estudios orientados al manejo sustentable o conservación de estas valiosas especies y de los ambientes donde crecen.

## Characteristics and wood extract contents of *Discaria chacaye* and *Ochetophila trinervis* (Rhamnaceae) from ecotonal areas of southwest Neuquen province

### Summary

In ecotone environments between woodlands and steppe in Patagonia, highlighted by its high biodiversity and historically affected by multiple human activities, two valuable woody species are present: *Discaria chacaye* and *Ochetophila trinervis* (Rhamnaceae) widely used for firewood and with great ecological, social and cultural importance in the region. In order to contribute to the knowledge of the bole of these species, wood from adult specimens, extracted for firewood near San Martín de los Andes, southwest of the province of Neuquén, Argentina, was procured. boards, cubes, microscopic cuts and macerations were prepared for determination of aesthetic, macroscopic and microscopic characteristics, physical properties (density and hygroscopic equilibrium moisture content) and wood extracts content. Aesthetic and macroscopic wood characters of both species indicate their aptitude for use in handicrafts and small pieces of manufacture. Wood anatomical characteristics point out high conductive safety and specialization of both species for water and thermal stress situations. The high density in the wood of both species largely explains its preference as a fuel in the region. Wood extractives content of both species was slightly higher than expected for temperate climate species. We believe this information may be useful for future studies aimed at sustainable management and conservation of these valuable species and the environments where they grow.

### Introducción

En los ambientes de ecotono entre el bosque (Provincias Fitogeográfica Subantártica) y la estepa (Provincias Fitogeográfica Patagónica) (Cabrera, 1976) en Patagonia se presentan dos

valiosas especies leñosas comúnmente denominadas "chacay" (árbol con espinas en Mapudungun): *Discaria chacaye* (G. Don) Tortosa y *Ochetophila trinervis* (Gillies ex Hook. & Arn.) Poepp.

**Palabras clave:** chacay - madera - leña - sustancias extractivas.

**Key words:** chacay - wood - firewood - extractive substances.

ex Miers. (Rhamnaceae). Son plantas caducifolias que pueden presentar tanto forma de arbusto como de árbol de más de 8 metros de altura (Figuras 1 y 2).

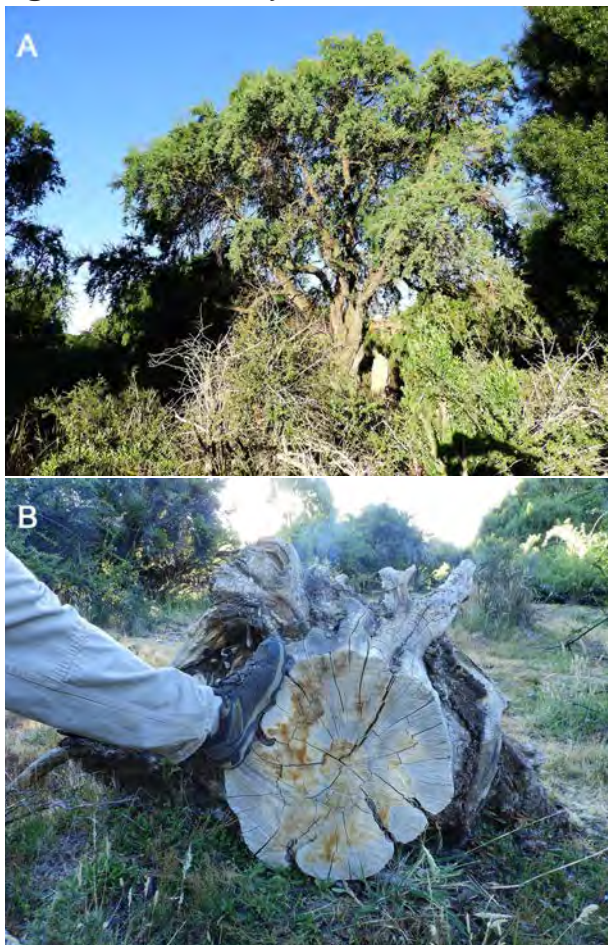
Forman tanto extensas masas puras conocidas como “chacayales” como bosques o matorrales mixtos con una gran variedad de especies. Estos ambientes Patagónicos de ecotono se destacan por presentar una alta biodiversidad (Raffaele y col., 2014) y por ser fuertemente impactados en forma histórica y recurrente por actividades humanas tales como: tala, extracción de leña, incendios y quemas, pastoreo, plantaciones forestales, urbanización, invasiones de especies exóticas vegetales y animales. De manera que es probable que las poblaciones de muchas de las especies características de este tipo de ambientes, muy poco representados en áreas protegidas, presenten problemas de conservación o estén sufriendo procesos regresivos.

Los “chacay” son especies con alto valor ecológico en éstos ambientes ecotonales ya que son de las pocas plantas fijadoras de nitrógeno atmosférico en Patagonia (Chaia, 2013). Éste atributo les permite crecer en suelos pobres en materia orgánica,

o degradados, y brindarles un efecto fertilizante, comportándose como pioneras en el desarrollo de comunidades vegetales (Chaia, 2013). Por otro lado, sus hojas, de alto valor nutritivo, forman parte de la dieta de gran diversidad de herbívoros. Presentan, además, potencial como plantas ornamentales (son cultivadas en Estados Unidos con ese propósito desde 1842) (Tortosa, 1983) y de uso para la restauración de suelos degradados por factores diversos como, por ejemplo, compactación por la presencia de ganado, incendios o erosión por viento o agua, entre muchos otros. Debido a que estas especies no necesitan “economizar” el uso del nitrógeno, sus hojas al caer en el otoño contienen una proporción alta de éste elemento (más del doble de la concentración de nitrógeno que las hojas de otras especies no fijadoras de nitrógeno de la región) por lo que su presencia en el ambiente provee un efecto fertilizante de suma importancia para los ambientes en los que crecen (Chaia, 2013).

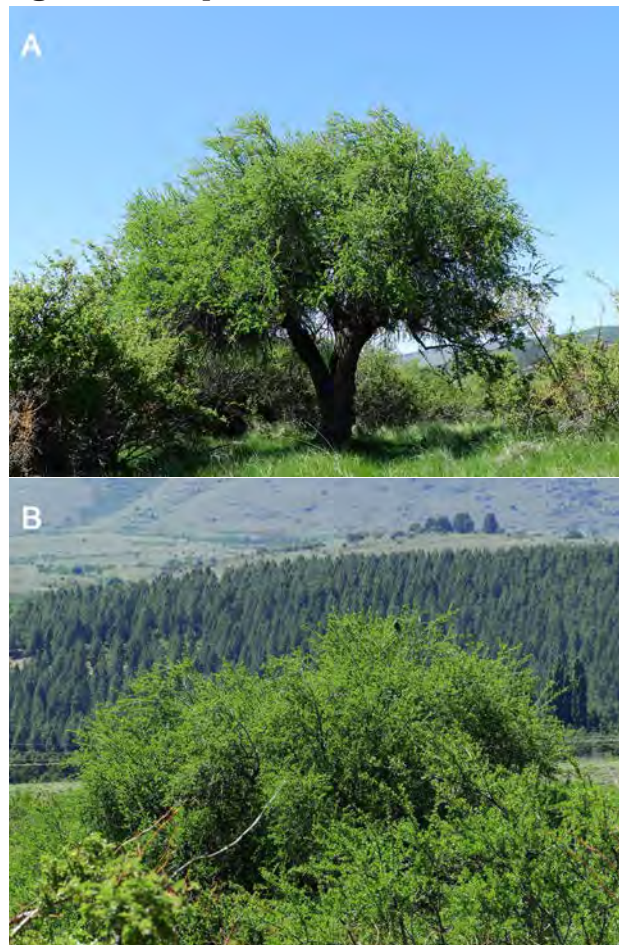
También presentan alto valor social y cultural, ya que son muy apreciadas por apicultores, siendo popularmente conocida la “miel de chacay”, utilizadas con diversos fines por pobladores rurales y consideradas como especies de

**Figura 1.-** *Discaria chacayae*



**A:** ejemplar de 12 m de altura en cercanías de San Martín de los Andes, provincia de Neuquén, en tierras en pleno proceso inmobiliario. **B:** Tocones que evidencian la extracción de leña de éstas especies en el sitio.

**Figura 2.-** *Ochetophila trinervis*



**A:** Ejemplar de 6 m de altura en cercanías de San Martín de los Andes, provincia de Neuquén, rodeado de “rosa mosqueta” (*Rosa rubiginosa* L. -Rosaceae-), especie invasora. **B:** Ejemplar maduro y juveniles rodeados de plantaciones de “pino ponderosa” (*Pinus ponderosa* Douglas ex Lawson & C. Lawson -Pinaceae-) en el mismo sitio.

importancia cultural para el pueblo Mapuche (comunicación personal miembros de la comunidad Curruhuinca, 2019), además de ser las especies más utilizadas de éstos ambientes para leña (Medina, 2019). Si bien la disponibilidad es la variable más determinante a la hora de "elegir" una especie para obtención de leña (Arre y col., 2015), hay algunas características de estas especies y de sus maderas que también influyen en la elección. En cuanto a sus características de forma se destaca su porte arbóreo de baja magnitud forestal y tronco muy ramificado, muchas veces multicaule, lo que aporta madera de menor dificultad para la obtención de piezas para su uso y comercialización como leña. En cuanto a las características de sus maderas, solo se reconocen de manera popular como las mejores de la zona como combustible. El objetivo de este trabajo es realizar un aporte al conocimiento de la madera de estas especies a partir de descripciones de características estéticas, macroscópicas, anatómicas, algunas propiedades físicas relacionadas con su calidad como material combustible y su contenido de extractivos. Los extractivos de la madera son un grupo de compuestos químicos que se pueden extraer con solventes polares y no polares. Estos componentes, también llamados materiales extraños, se encuentran en los lúmenes de las células, en los intersticios de la pared celular o en las cavidades intercelulares. Constituyen 4 al 10 % del peso anhidro de la madera de especies que crecen en climas templados (Rowell, 1984). La presencia de extraíbles no modifica la estructura de la madera y contribuye en un bajo porcentaje a su masa, sin embargo, tiene un gran efecto en sus propiedades y en sus procesos de transformación (Avila y Herrera, 2012). Consideramos que la presente información podrá ser de utilidad para futuros estudios orientados al manejo sustentable o conservación de estas valiosas especies y de los ambientes donde crecen.

## Materiales y métodos

La madera estudiada proviene de ejemplares adultos de *Discaria chacaye* y de *Ochetophila trinervis* extraídos para leña en la Estancia Chapelco Chico (40° 04' 31" S; 71° 08' 14" O), San Martín de los Andes, suroeste de la provincia de Neuquén, República Argentina. La zona se enmarca en el ecotono o transición entre las Provincias Fitogeográficas Subantártica y Patagónica (Cabrera, 1976), presenta una altitud de 800 msnm y clima templado frío, ventoso, con estación seca en verano. La temperatura media anual es de 10 °C y la precipitación media anual de 800 mm. Las amplitudes térmicas diarias y estacionales son marcadas y no existe período libre de posibilidad de ocurrencia de heladas. La historia de uso de la zona ha sido mayormente pastoril, con posterior reconversión al uso forestal con plantación de pináceas. Actualmente el uso de la tierra sigue siendo principalmente pastoril, aunque también se extraen áridos, leña y se presenta

una creciente presión inmobiliaria. El material de referencia correspondiente se conserva en el herbario y la xiloteca del Asentamiento Universitario San Martín de los Andes de la Universidad Nacional del Comahue.

Las muestras de madera obtenidas consistieron en tablas de 18 x 10 x 2 cm para la determinación de caracteres estéticos y macroscópicos (Tortorelli, 2009) y probetas de 2 x 2 x 2 cm tanto para ensayos de densidad, de contenido de humedad de equilibrio higroscópico y de contenido de extractivos como para la elaboración de cortes microscópicos y macerados para las descripciones anatómicas. Los macerados se realizaron mediante la técnica de Franklin (Franklin, 1937) y los preparados microscópicos según las normas tradicionales de la anatomía de la madera y teñidas con coloración simple de safranina. Las mediciones anatómicas se efectuaron siguiendo las recomendaciones del comité de IAWA (1989), con la medición de 25 elementos por variable y tratamiento. Se calcularon los siguientes índices eco-anatómicos (Carlquist, 1988) como indicadores de seguridad conductiva y grado de especialización del leño: índice de vulnerabilidad (IV) (diámetros de poros/abundancia de poros), valores menores indican mayor seguridad conductiva (menor vulnerabilidad a la cavitación); índice de mesomorfía (IM) (IV \* longitud de elementos de vaso), valores menores a 75 indican leños xeromórficos; índice de crecimiento intrusivo (Lf/Lv) (longitud de fibras/longitud de elementos de vaso), valores entre 1 y 2,6 indican leños con alta especialización. Las fotografías fueron tomadas con cámara fotográfica digital acoplada MshOt60 en microscopio Nikon Eclipse E600.

## Determinación del contenido de humedad de equilibrio higroscópico

Para la determinación del contenido de humedad de equilibrio higroscópico ( $CH_e$ ) se registró el peso de las probetas en estado de equilibrio higroscópico ( $P_e$ ); posteriormente se llevaron a peso constante en estufa (103 °C ± 2 °C) y se determinó el peso anhidro ( $P_o$ ) para aplicar la siguiente fórmula:

$$CH_e = \frac{P_e - P_o}{P_o}$$

## Determinación de la densidad

Para la determinación de la densidad de la madera se registró el peso ( $P_e$ ) y el volumen ( $V_e$ ) de las probetas en estado de equilibrio higroscópico; posteriormente se llevaron a estado anhidro en estufa (103 ± 2 °C) y se determinó el peso ( $P_o$ ) y el volumen anhidro ( $V_o$ ), para obtener:

Densidad aparente con contenido de humedad de equilibrio higroscópico.

$$D_e = \frac{P_e}{V_e}$$



Densidad aparente anhidra.

$$D_o = \frac{P_o}{V_o}$$

El volumen se determinó por desplazamiento de agua sobre balanza electrónica según lo recomendado por Williamson y Wiemann (2010).

### Determinación del contenido de extractivos solubles en agua caliente

Se pesó una muestra de partículas finas de madera seca ( $P_i$ ) de cada especie en un matraz con 100 ml de agua destilada caliente. Se conectó un condensador de reflujo en baño de agua hirviendo por 3 horas, se filtró y el residuo se secó en estufa a  $103 \pm 2$  °C hasta peso anhidro ( $P_f$ ). Se determinó el contenido de extractivos (TAPPI, 1999), en porcentaje, con la siguiente fórmula:

$$CE = \frac{P_i - P_f}{P_i}$$

### Determinación del contenido de extractivos solubles en etanol

El análisis se efectuó dentro de una campana de extracción de gases. Se pesó una muestra de partículas finas secas de la madera de cada especie ( $P_i$ ) en un dedal de extracción, el cual se introdujo en un aparato de extracción continua Soxhlet conectado a un matraz con 150 mL del disolvente. Luego de alcanzar al menos 24 extracciones de 20 minutos cada una, se retiró el matraz del aparato y se evaporó parcialmente el disolvente a un volumen de 20 a 25 mL. El extracto obtenido se llevó a estufa durante 1 hora a  $105 \pm 3$  °C, luego se enfrió en un desecador y se pesó en la balanza de precisión ( $P_f$ ) (TAPPI, 1999). Una determinación en blanco se llevo a cabo para conocer el peso del residuo del solvente ( $P_f$ ).

$$CE = \frac{P_i - P_f}{P_i}$$

## Resultados

### *Discaria chacaye*

#### Caracteres estéticos del leño

La coloración de la madera se presenta entre el grupo 6° (coloraciones castaño rosáceas) y el grupo 5° (coloraciones pardas). Tiene veteado floreado, cromático y suave jaspeado en los cortes radiales; textura gruesa y heterogénea, grano derecho a oblicuo. Presenta leve aroma agradable al aserrase.

#### Características macroscópicas del leño

Presenta leño de porosidad circular a semicircular, posee poros extremadamente pequeños, muy numerosos y agrupados. Anillos de crecimiento demarcados. En corte transversal se observa un diseño reticulado constituido por tejido muy denso, de coloración oscura y sin poros, alternando, en forma reticulada, con tejido claro formado por los poros agrupados en disposición dendrítica o ulmiforme. En el corte longitudinal radial se observa un jaspeado tenue y agradable. En el corte longitudinal tangencial se observa veteado floreado muy marcado y bandas alternadas de tejido oscuro (fibroso) y tejido claro (poros agrupados) que producen un veteado muy vistoso y agradable.

#### Características microscópicas del leño

**Sección transversal.** Anillos de crecimiento demarcados por porosidad circular a semicircular y por compresión tangencial de las fibras en el leño tardío. Los poros constituyen el 30 % del leño y están dispuestos en porosidad dendrítica y algunas veces ulmoide; poros solitarios, agrupados, múltiples radiales cortos y múltiples radiales largos. Son muy numerosos, 206 (0-484) por  $\text{mm}^2$  y muy pequeños, diámetro tangencial 31 (17-52)  $\mu\text{m}$ . Las fibras componen el 35 % del leño, presentan diámetro medio de 13  $\mu\text{m}$ , lúmenes reducidos y paredes gruesas 4 (1-6)  $\mu\text{m}$ . En el leño tardío están comprimidas tangencialmente. Parénquima leñoso de tipo paratraqueal vasicéntrico incompleto y también presenta células aisladas de parénquima apotraqueal difuso; es muy escaso, constituye el 1 % del tejido leñoso.

**Sección tangencial.** Los radios leñosos constituyen el 34 % del leño; son uniseriados a multiseriados con 1-6 células, no estratificados, heterogéneos y muy abundantes, con una frecuencia media de 147 (92-225) radios/ $\text{mm}^2$ . Se presentan radios agregados y fusionados en sentido axial, formando un solo radio con más de 100 células de altura.

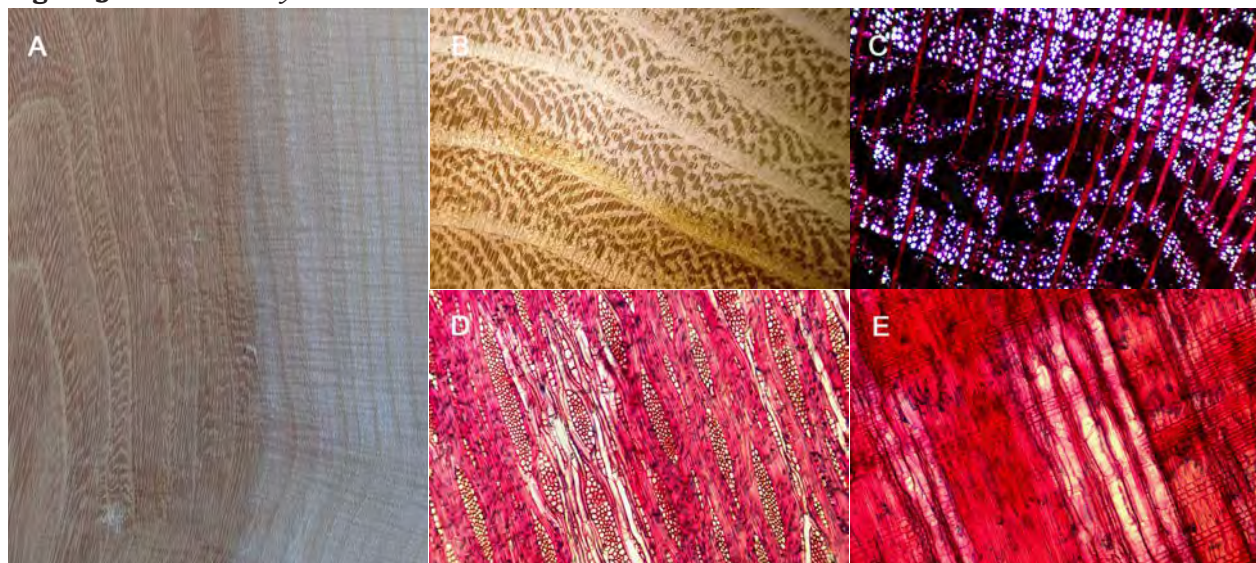
**Sección radial.** Los elementos vasculares tienen perforaciones simples, terminales o laterales y tabiques horizontales a oblicuos. La pared de los vasos presenta engrosamientos en forma de espiral y puntuaciones intervasculares alternas.

**Material disociado.** Elementos de vaso cortos, de 202 (130-280)  $\mu\text{m}$ , muchos de ellos con apéndices de hasta 65  $\mu\text{m}$  de longitud; fibras con longitud promedio 536 (180-1050)  $\mu\text{m}$ .

**Índices eco-anatómicos.** Índice de vulnerabilidad: 0,15; índice de mesomorfía: 30; índice de crecimiento intrusivo: 2,65.

**Propiedades físicas analizadas.** Contenido de humedad de equilibrio higroscópico: 11 %; densidad:  $0,9 \text{ g/cm}^3 = 900 \text{ Kg/m}^3$ .

**Contenido de extractivos.** Solubles en agua: 7 %; solubles en etanol: 7 %.

**Figura 3.-** *Discaria chacaye*

**A:** Sección longitudinal de tabla de xiloteca en la que se puede observar el llamativo veteado en corte radial (derecha) y tangencial (izquierda). **B:** Sección transversal para observación macroscópica del leño. **C:** Sección transversal 40x. **D:** Sección tangencial 100x. **E:** Sección radial 100x.

### *Ochetophila trinervis*

#### Caracteres estéticos

La coloración de la madera se presenta entre el grupo 5° (coloraciones pardas) y el grupo 6° (coloraciones castaño rosáceas). Tiene veteado cromático, suave jaspeado en los cortes radiales y floreado suave en cortes tangenciales. Textura gruesa y heterogénea, grano derecho a oblicuo. Presenta leve aroma al aserrase.

#### Características macroscópicas del leño

Presenta leño de porosidad circular a semicircular, posee poros extremadamente pequeños, muy numerosos y agrupados. Anillos de crecimiento demarcados. En corte transversal se observa un reticulado muy demarcado, constituido por tejido muy denso, de coloración oscura y sin poros alternando, en forma de retículo, con tejido claro formado por los poros agrupados en disposición dendrítica o ulmiforme. En el corte longitudinal radial se observa un jaspeado tenue y agradable. En el corte longitudinal tangencial se observan bandas claras y oscuras resultantes de la disposición de tejido fibroso (oscuro) y tejido claro (poros agrupados); se observan, con lupa, los elementos de vaso en trayecto sinuoso.

#### Características microscópicas del leño

**Sección transversal.** Anillos de crecimiento demarcados por porosidad circular a semicircular y por compresión tangencial de las fibras en el leño tardío. Los vasos constituyen el 36 % del leño y están dispuestos en porosidad dendrítica y algunas veces ulmoide; poros solitarios, agrupados, múltiples radiales cortos y múltiples radiales largos. Son muy numerosos, hasta 243 por mm<sup>2</sup> y muy pequeños, diámetro tangencial 29 (15-45) μm,

con puntuaciones intervasculares alternas. Las fibras componen el 41 % del leño, presentan diámetro medio de 11 (4-20) μm, lúmenes reducidos y paredes gruesas 3 (2-6) μm. En el leño tardío están comprimidas tangencialmente. El parénquima leñoso es de tipo paratraqueal vasicéntrico incompleto y también presenta células aisladas de parénquima apotraqueal difuso; es muy escaso, constituye el 3 % del tejido leñoso.

**Sección tangencial.** Los radios leñosos constituyen el 20 % del leño; son uniseriados a multiseriados con 1-6 células, no estratificados, heterogéneos y muy abundantes, con una frecuencia media de 150 (116-210) radios/mm<sup>2</sup>. Se presentan radios agregados y fusionados en sentido axial, formando un solo radio con más de 100 células de altura.

**Sección radial.** Los elementos de vaso tienen perforaciones simples, terminales o laterales y tabiques horizontales a oblicuos, muchos de ellos con apéndices de hasta 100 μm de longitud. La pared de los vasos presenta engrosamientos en forma de espiral.

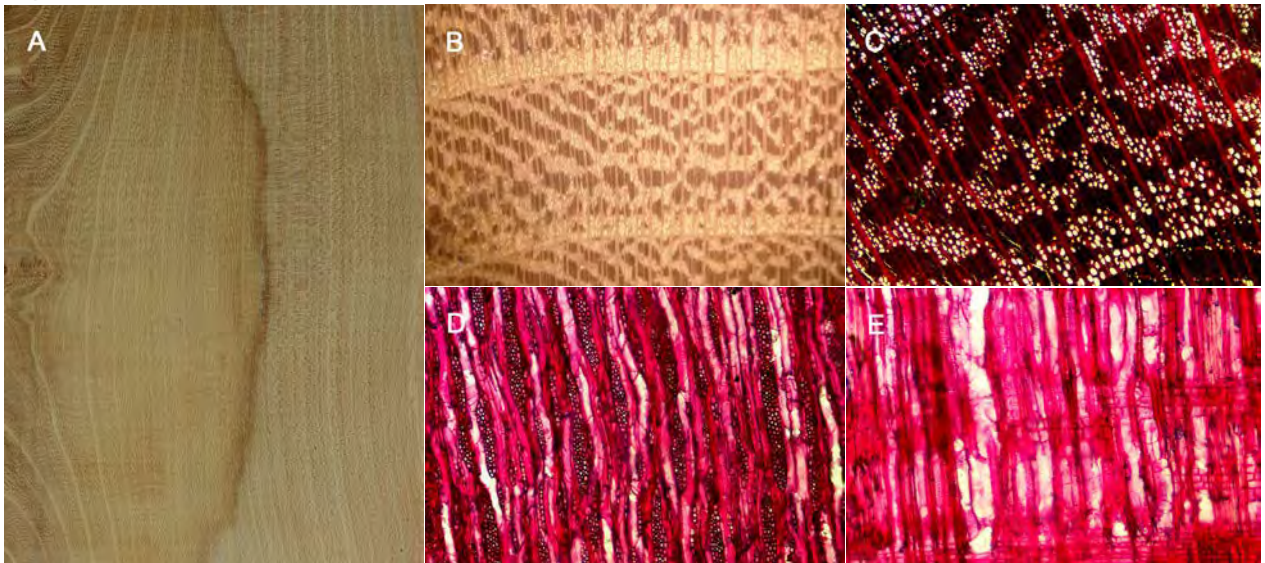
**Material disociado.** Los elementos de vaso son cortos, de 217 (52-295) μm, muchos con apéndices de variada longitud, llegando algunos hasta 65 μm de largo. Las fibras presentan longitud promedio 525 (180-1100) μm.

**Índices eco-anatómicos.** Índice de vulnerabilidad: 0,12; índice de mesomorfía: 26; índice de crecimiento intrusivo: 2,41.

**Propiedades físicas analizadas.** Contenido de humedad de equilibrio higroscópico: 12 %; densidad: 0,9 g/cm<sup>3</sup> = 900 Kg/m<sup>3</sup>.

**Contenido de extractivos.** Solubles en agua: 7,4 %; solubles en etanol: 7 %.



**Figura 4.-** *Ochetophila trinervis*

**A:** Sección longitudinal de tabla de xiloteca en la que se puede observar el llamativo veteado en corte radial (derecha) y tangencial (izquierda). **B:** Sección transversal para observación macroscópica del leño. **C:** Sección transversal 40x. **D:** Sección tangencial 100x. **E:** Sección radial 100x.

## Discusión y conclusiones

Los caracteres estéticos y macroscópicos de la madera de las dos especies indican su aptitud para usos en artesanías y trabajos con piezas de poca talla. Las características anatómicas concuerdan con las descritas por Guerra y col. (2012) y muestran alta seguridad conductiva y especialización del leño de ambas especies a situaciones de estrés hídrico o térmico. Así lo indica la abundancia y el alto agrupamiento de poros de pequeño diámetro y con paredes reforzadas con engrosamientos espiralados y los valores arrojados por los índices de vulnerabilidad, de mesomorfía y de crecimiento intrusivo (Carlquist, 1988). La estrategia de alta seguridad conductiva del leño explica en parte la capacidad de éstas especies de crecer en ambientes cercanos a la estepa, con clima de marcada estacionalidad, gran variabilidad interanual de las precipitaciones y altas amplitudes térmicas. La densidad de la madera de ambas especies, seca al aire (con el contenido de humedad de equilibrio higroscópico), es alta en comparación a otras especies leñosas frecuentes en éstos ambientes de ecotono entre el bosque y la estepa en Patagonia (Medina, 2019). Teniendo en cuenta que en éstas regiones la leña se vende principalmente por unidad de volumen, la densidad de la madera de éstas especies explica en gran parte su preferencia para su uso como combustible. El contenido de extractivos de la madera de ambas especies fue levemente mayor que el esperado para especies de climas templados (Rowell, 1984). Según varios autores (Fuwape, 1990, Ticiane y col., 2013; Krajnc, 2015) estas sustancias pueden influir en la calidad de una madera como combustible, además de afectar su densidad, durabilidad y resistencia al ataque biológico. Son además

responsables del aroma y el color de la madera y son usados cada vez más a nivel mundial en una variedad amplia de utilidades, como tintas para textiles y alimentos naturales, medicinas, antioxidantes y en la industria cosmética (Ticiane y col., 2013).

Cabe destacar que al no existir información previa para estas especies consideramos importante el actual aporte como preliminar. Por otro lado, en trabajos futuros se deberá profundizar en la composición química de los extractivos de la madera de estas especies a diferente niveles (en el individuo, en la población y entre poblaciones).

## Agradecimientos

Al Lic. Pablo Moreno del Laboratorio de Ictiopatología del Centro de Ecología Aplicada del Neuquén por permitirnos la utilización del microscopio NIKON ECLIPSE E600 (CEAN) y su cámara fotográfica digital acoplada MshOt60. A la Lic. En Biología María Inés Zingoni por el aporte de preparados microscópicos.

## Referencias bibliográficas

- Arre, J.; Morales, S.; Ladio, A.; Kutschker, A. (2015). "Etnobotánica de las plantas leñateras y su circuito comercial en una ciudad de la Patagonia Argentina". *Gaia Scientia* 9 (3): 41-48.
- Ávila, L.E.; Herrera, M.A. (2012). "Efecto de los extraíbles en tres propiedades físicas de la madera de *Enterolobium cyclocarpum* procedente de Michoacán, México". *Revista Bosque* 33 (2): 227-232.

- Cabrera, A.L. (1976). *Regiones Fitogeográficas*. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. 2ª ed. Fasc. 1. Tomo II. ACME. Bs. As.: 64-75.
- Carlquist, S. (1988). *Comparative wood anatomy*. Berlín, Alemania. Springer Verlag: 460
- Chaia, E.E. (2013). "Una asociación especial entre bacterias y plantas". *Desde la Patagonia Difundiendo Saberes* 10 (15): 34-39.
- Guerra, P.E.; González, S.B.; Kirner, H.J.; Retta, D.S.; Di Leo Lira, P.; Gómez, M.F. (2012). "Aspectos anatómicos del leño y composición de los aceites esenciales de especies arbustivo-leñosas del ecotono y la estepa del noroeste de la Provincia del Chubut". *Dominguezia* 28 (1): 13-44.
- IAWA (1989). Bulletin. New Series Vol. 10 (3). Netherlands: 223-359.
- Krajnc, N. (2015). *Wood fuels handbook. Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Pristina: 40.
- Franklin, G. (1937). "Permanent Preparations of Macerated Wood Fibres". *Tropical woods* 49: 21-22.
- Fuwape, J.A. (1990). "Effect of extractives on heating value of *Gmelina arborea*". *Journal of Tropical Forest Science* 4 (4): 281-285
- Medina, A.A. (2019). "Esos arbolitos llamados Chacay. Plantas multifacéticas de Patagonia". *Desde la Patagonia Difundiendo Saberes* 16 (27): 32-39.
- Raffaele, E.; De Torres Curth, M.; Morales, C.L.; Kitzberger, T. (2014). *Ecología e historia natural de la Patagonia Andina: un cuarto de siglo de investigación en biogeografía, ecología y conservación 1ª edición*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Fundación de Historia Natural Félix de Azara: 256.
- Rowell, R. (1984). *The chemistry of solid wood*. Washington D. C., USA. American Chemical Society: 614.
- TAPPI. (1999). "Test Methods". Technical Association for the Pulp and Paper Industries. TAPPI Press. Atlanta.
- Ticiane, R.; Moura, L.F.; Torquato, P.R.; Brito, J.O. (2013). "Effect of Extractive Removal on the Calorific Value of Brazilian Woods Residues". *Journal of Chemistry and Chemical Engineering* 7: 340-343.
- Tortorelli, L.A. (2009). *Maderas y bosques argentinos*. Tomo I (2ª edición). Buenos Aires: Orientación Gráfica Editora: 515.
- Tortosa, R.D. 1983. "El género *Discaria* (Rhamnaceae)". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 22 (1-4): 301-335.
- Williamson, G.B.; Wiemann, M.C. (2010). "Measuring wood specific gravity correctly". *American Journal of Botany* 97 (3): 519-524.





# **Artefactos, saberes y prácticas científico-educativas de la farmacobotánica argentina (siglo XIX y XX)**

## **Nuevas miradas sobre las colecciones históricas del Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez” de la Universidad de Buenos Aires**

Gabriela Mayoni

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Farmacología, Cátedra de Farmacobotánica y Museo de Farmacobotánica “Juan Aníbal Domínguez”, Junín 956, 1113 Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina.

Universidad de Buenos Aires, CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia: [gabrielamayoni@hotmail.com](mailto:gabrielamayoni@hotmail.com)

### **Resumen**

Este artículo presenta los avances de investigación del proyecto postdoctoral “Artefactos, saberes y prácticas científico-educativas: el caso de la enseñanza de la farmacobotánica argentina (1900-1940)” iniciado en el ámbito de la Cátedra y Museo de Farmacobotánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires. Su objeto de estudio es la cultura material de las ciencias en relación con las prácticas científico-educativas y la circulación del conocimiento de la botánica aplicada a la farmacia y la medicina en el marco de la creación de nuevos espacios de formación científica y de investigación en la Universidad de Buenos Aires. En este trabajo se analizará esta interrelación a través de documentos históricos, libros especializados y artefactos científicos de la época, que componen el actual patrimonio científico del Museo de Farmacobotánica. Las colecciones históricas de este Museo revisten un alto grado de interés como fuentes primarias, tanto para la historia institucional, como para la historia de las ciencias y de la educación argentina en el ámbito de la Universidad de Buenos Aires.

## **Artifacts, knowledge and scientific-educational practices of Argentinean Pharmacobotany (19<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> centuries)**

### **New perspectives on the historical collections of the Pharmacobotanical Museum “Juan A. Domínguez” of the University of Buenos Aires**

### **Summary**

This paper presents research advances of the postdoctoral project “Artifacts, knowledge and scientific-educational practices: the case of the teaching of Argentine pharmacobotany (1900-1940)” started in the Chair and Museum of Pharmacobotany of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of the University of Buenos Aires. Its object of study is the material culture of science in relation to the scientific-educational practices and the circulation of knowledge of botany applied to pharmacy and medicine within the framework of creation of new spaces for scientific training and research at the University of Buenos Aires. This paper will analyze this interrelation through historical documents, specialized books and scientific artifacts of the time that make up the current scientific heritage of the Pharmacobotany Museum. The historical collections of this Museum have a high degree of interest as primary sources, both for institutional history, as well as for the history of science and Argentinean scientific education of the University of Buenos Aires.

### **Introducción**

En Buenos Aires, hacia mediados del siglo XIX, la enseñanza de la botánica y su aplicación en la farmacia y la medicina, se acotaba al dictado de algunos contenidos

generales en la Facultad de Medicina dentro de las clases de materia médica, la cual formalizó los estudios de farmacia en 1856 cuando obtuvo sus primeros egresados

**Palabras clave:** colecciones científicas - farmacobotánica - Universidad de Buenos Aires.

**Key words:** scientific collection - pharmacobotany - University of Buenos Aires.

(Cignoli, 1953). En 1865 junto a la creación del Departamento de Ciencias Exactas y la apertura de la carrera de ingeniería, se abrió la asignatura historia natural general en los cursos preparatorios de la Universidad. Esta asignatura era exigida tanto a los alumnos de la carrera de ingeniería como a los alumnos de la Facultad de Medicina y a los que siguieran estudios de farmacia (Camacho, 1971; Buchbinder, 2010; Halperin, 2013 [1962]; Díaz de Guijarro, Baña, Borches y Carnota, 2015). Para estos últimos también se les había abierto una cátedra especial de farmacología a cargo del profesor Carlos Murray, presidente en ese momento de la Sociedad de Farmacia Argentina (fundada en 1856), la cual impulsaba de forma activa la consolidación de los estudios en el ámbito universitario (cf. Cignoli, 1947).

Las clases de farmacología fueron las únicas de carácter especializado que tuvieron los estudiantes de farmacia por varios años por lo que transitaban la mayor parte de su aprendizaje junto a los alumnos de medicina. También, debieron seguir clases de física, química, botánica y zoología que se dictaron en la Facultad de Ciencias Físico-Naturales desde su creación en 1874 (Cignoli, 1953; Amorín, 1996). Años más tarde, nuevas reformas en 1898 consolidaron la Escuela de Farmacia bajo la dependencia de la Facultad de Ciencias Médicas de la ya nacionalizada Universidad de Buenos Aires.<sup>1</sup>

En ese entorno el farmacéutico Juan Aníbal Domínguez investigó sobre la materia médica argentina y las colecciones de botánica que formó, junto a sus materiales de trabajo, fueron la base para la creación en el año 1900 de un museo de farmacología dentro de la Facultad de Ciencias Médicas. Este incipiente museo se convirtió luego en el Instituto de Botánica y Farmacología de la Universidad de Buenos Aires (Domínguez, 1928). En el Instituto, las colecciones de especies botánicas crecieron y se formaron nuevas colecciones de drogas vegetales y productos autóctonos, se condensó una importante biblioteca especializada y se formaron laboratorios de fitoquímica, sala de extracciones y farmacodinamia. Su objetivo era ser un centro de investigación de recursos locales para el estudio intenso de las especies botánicas útiles de la Argentina y con los métodos prácticos de laboratorio (Hicken, 1923). Fue dirigido por Domínguez hasta su fallecimiento en 1946.

Con el tiempo la institución incorporó también colecciones provenientes de las antiguas cátedras de la Escuela de Farmacia como modelos didácticos de plantas y hongos, láminas murales, diapositivas para proyecciones luminosas, entre otros. Y propició la formación y adquisición

de diversas y numerosas colecciones, tales como muestrarios de minerales y fósiles, muestras paleobotánicas, muestrarios de semillas y de productos industrializados de origen vegetal, colecciones de etnografía y antropología, diversos instrumentos y aparatos científicos, entre otros muchos elementos.

El actual Museo de Farmacobotánica, dependiente desde 1957 de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, es uno de los museos más antiguos de la Universidad de Buenos Aires y custodia el principal repositorio de plantas medicinales y de materia médica argentina junto a importantes colecciones de diverso tipo formadas por la labor docente e investigadora a lo largo de su historia.

El objetivo de este trabajo es presentar los avances del proyecto de investigación histórica que se inició en el ámbito de la Cátedra y Museo de Farmacobotánica "Juan Aníbal Domínguez" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires. Ese proyecto tiene por objeto la cultura material de las ciencias en relación a las prácticas científico-educativas y la circulación del conocimiento de la farmacobotánica argentina hacia finales del siglo XIX y principios del siglo XX, en el marco de la creación de nuevos espacios de formación científica y de investigación en la Universidad de Buenos Aires.

## Materiales y métodos

El interés de esta investigación se centra en el análisis de los artefactos y sus formas de producción y circulación, así como las modalidades pedagógicas y las prácticas científicas asociados a los artefactos. En este sentido, el trinomio artefactos, saberes y prácticas resulta adecuado para un análisis multidimensional de la cultura material de las ciencias y para este caso en particular, de la farmacobotánica argentina y su enseñanza.

Hace un tiempo se ha propuesto, en el ámbito de la historia de la ciencia, el estudio de la cultura material como un recurso para profundizar sobre aspectos vinculados a la producción de dispositivos visuales y la formación de colecciones científicas, así como la materialidad y la cultura visual alrededor de la circulación de los saberes y las prácticas científicas (Secord, 2004; Daston, 2004; 2014; Wise, 2006; Ludwig, 2013).

Esta mirada se asocia a su vez, a la aproximación "biográfica" de los objetos, que se ha propuesto para seguir los recorridos, las transformaciones y los cambios de sentido que surcan en su desplazamiento por los diferentes espacios y contextos sociales (Appadurai, 1986). Los artefactos científicos forman parte de complejas formas de interacción desde donde se pueden estudiar las trayectorias vitales y el entramado de relaciones y vínculos que posibilitaron su existencia, circulación y uso (Harvey, 2009; Dannehl, 2009; Heering, 2011).

Por otra parte, la elaboración y circulación de objetos

<sup>1</sup> La Facultad de Medicina de Buenos Aires estuvo separada de la Universidad entre 1852 y 1874, cuando se reincorpora en una reforma del establecimiento educativo y pasó a llamarse Facultad de Ciencias Médicas. En 1881, la Universidad de Buenos Aires fue nacionalizada (Buchbinder, 2010; Halperin, 2013 [1962]).

y colecciones científicas se han estudiado también en relación a la expansión de un mercado cultural y de consumo masivo de las ciencias (Pickstone, 2000; Fyfe y Lightman, 2007). Un mercado cultural que se expandió hacia mediados del siglo XIX gracias a diferentes mecanismos y dispositivos que tuvieron una adopción global y masiva, cada vez más accesible a más amplios públicos. Entre los cuales podemos mencionar la expansión de la imprenta y de la actividad de prensa, las exposiciones universales y la creación de jardines, gabinetes y museos científicos en diferentes ciudades de todo el mundo (Pyenson y Sheets-Pyenson, 1999; Findlen, 2004; Lawn, 2009; Apple, Downey y Vaughn, 2012).

En este caso, resultan visibles estas dinámicas también en la cultura material del Museo de Farmacobotánica de la Universidad de Buenos Aires y en relación a los saberes y las prácticas científicas y educativas desarrolladas por los docentes e investigadores asociados. A continuación, se presentan algunos aspectos de la interrelación entre los conocimientos y las prácticas de enseñanza en torno a la botánica médica y la botánica farmacéutica, para luego adentrarse en las principales colecciones históricas del Museo de Farmacobotánica (FFyB-UBA) que revisten un alto grado de interés como fuentes primarias, tanto para la historia institucional, como para la historia de las ciencias y de la educación científica argentina en el ámbito de la Universidad de Buenos Aires.

### Saberes y prácticas científico-educativas

En instancias anteriores a esta investigación<sup>2</sup> se ha estudiado cómo algunos docentes naturalistas, profesores universitarios y de colegios preparatorios, impactaron en la formación de gabinetes y en el desarrollo de la enseñanza de las disciplinas científicas dentro de las instituciones educativas en las que se desempeñaron. Desde su labor docente se involucraron en debates pedagógicos sobre la forma de enseñar ciencias a los jóvenes estudiantes e impulsaron, desde la confección de textos y programas de enseñanza, ciertas modalidades pedagógicas y contenidos vinculados a la naturaleza local. Del mismo modo demandaron la creación de gabinetes, laboratorios y la compra de ciertos materiales didácticos. Algunos también se comprometieron personalmente en la formación de colecciones y museos con elementos de interés científico, histórico y cultural de las localidades.

En el ámbito de la Facultad de Medicina y la antigua Escuela de Farmacia en la Ciudad de Buenos Aires, varios estudiosos de la época realizaron contribuciones científicas significativas y su labor docente se plasmó tanto en la producción escrita como también en las colecciones que formaron parte de las cátedras, gabinetes y museos universitarios. Entre otros, se destaca la labor de Adolfo Mujica, Cristóbal

Hicken, Eduardo Holmberg, Juan Boeri, Lucio Durañona, Juan Domínguez e Ildefonso Vattuone, que actuaron en las diversas áreas de la botánica farmacéutica, botánica médica, la farmacognosia y la fitoquímica (Hicken, 1923; Cignoli, 1953; Camacho, 1971; Amorín, 1996).

Hacia finales del siglo XIX, en el ámbito universitario circulaban un gran repertorio de manuales y libros de referencia para el estudio de las diferentes disciplinas científicas. Muchos de ellos provenían de Europa, incorporados a través de editoriales y casas comerciales que abastecían de materiales a los establecimientos educativos y bibliotecas. Para los estudios botánicos libros extranjeros escritos en inglés, alemán o francés de autores de referencia como Linneo, Jussieu, De Candolle, Engler o del sistema natural filogenético de Van Tieghem, formaban parte del repertorio de las bibliotecas y librerías del país. De igual forma, en el ámbito local existía una práctica extendida de publicación de textos especializados y de enseñanza por parte de los docentes universitarios de los diferentes ramos, quienes traducían en muchos casos estos textos al español realizaban nuevas versiones o editaban sus propias clases (cf. Camacho, 1971). De esta manera, y apoyados por las principales editoriales, docentes y especialistas locales publicaron conferencias, compendios, tratados y manuales para la enseñanza.<sup>3</sup> Buenos Aires afianzó una importante práctica cultural en este sentido (cf. Buonocore, 1974).<sup>4</sup> Asimismo, las revistas científicas de la época editadas en el país significaban una importante fuente de textos científicos locales e internacionales, como fueron la *Revista Farmacéutica*, la *Revista de la Sociedad Médica* y los *Anales de la Sociedad Científica*, el *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias de Córdoba*, entre otras.

Para el estudio de las ciencias naturales, se editaron varios textos de los profesores que ejercían en la Universidad de Buenos Aires. En algunos casos se trataron de textos similares a los tratados clásicos de historia natural con información sobre la descripción de especies, morfologías, usos comerciales y para la actividad humana. Sin embargo, los textos solían ser adaptados, incorporando los avances sobre el conocimiento de los recursos naturales, de la flora y la fauna local, mencionando investigaciones y exploraciones contemporáneas propias y de colegas (Ma-

3 Por ejemplo, el profesor naturalista y zoólogo Carlos Berg, aducía que sus tratados eran escritos con el objetivo de dotar a los establecimientos educativos de libros de texto que respondieran al "actual estado de la ciencia", principalmente en lengua castellana, advirtiendo que poco se había publicado en el idioma y que los textos que circulaban eran extranjeros con traducciones no actualizadas (Berg, 1887). Como en otros casos, el autor detallaba las fuentes tomadas como guía para realizar los compendios, tales como Claus, Darwin, Milne Edwards, Ludwig Schmarda, Robert Wiedersheim, entre otros (cf. Berg, 1887: VII).

4 En el tomo II de los *Anales de la Universidad de Buenos Aires* (1877) se publicó un interesante apartado que refleja esta práctica: "Catálogo de libros didácticos que se han publicado o escrito en Buenos Aires desde 1790 hasta 1867 inclusive". *Historia de la Universidad de Buenos Aires*, *Anales* – Tomo II, año 1877, pp. 497-538. AHUBA.

2 Tesis doctoral *Colecciones, museos y enseñanza de la historia natural en los colegios nacionales argentinos (1870-1900)*. Facultad de Filosofía y Letras, UBA. 2019.

**Figura 1.-** Primeros libros de textos para la enseñanza de la Farmacia



**A:** Publicidad del libro *Tratado de Farmacia y Farmacognosia* de Carlos Murray en la Revista Farmacéutica de 1866. **B:** *Apunte de Botánica Médica*. 1904 por Domínguez y Durañona. Biblioteca del Museo de Farmacobotánica (FFyB-UBA).

yoni, 2019). Por ejemplo, en el ámbito de la Farmacia, en 1866 se publicó el primer *Tratado de Farmacia y Farmacología* del profesor Carlos Murray (1874 la 2da edición) (Figura 1A), que se destacaba por ser el primero en publicarse en el país y en lengua española. La reseña realizada por la redacción de la *Revista Farmacéutica* destacó la importancia sobre la incorporación de especies que podían reemplazar a las europeas, como en el caso de las cantáridas, cuatro de ellas descritas y examinadas por el director del entonces Museo Público de Buenos Aires, German Burmeister y a las que se le habían reconocido principios vesicantes.<sup>5</sup>

5 *Revista Farmacéutica*, 1866, a.8, t.4, n.22, p.586. Biblioteca del Museo de Farmacobotánica, FFyB-UBA.

Otros libros de profesores naturalistas de la época como el de Juan Ramorino, “Rudimentos de Mineralogía”, publicado en 1869, incluyó novedades contemporáneas sobre la exploración de recursos naturales de la región y mencionó varios minerales de la Argentina y sus alrededores, así como sus usos. Por ejemplo, el descubrimiento del ingeniero inglés Francisco Rickard,<sup>6</sup> sobre la presencia de ácido bórico en la cordillera de la provincia de Mendoza, “en el lugar llamado Puente del Inca” (Ramorino, 1869: 51). También el libro “Elementos de botánica” de Otto Schnyder de 1878 se publicó con arreglo “a las condiciones fitológicas de la Argentina” (Hicken, 1923: 122), y los tratados publicados de Carlos Berg (de 1887 a 1893) incorporaron varios “representantes de la fauna argentina, uruguaya, paraguaya y chilena [...] que por la vasta distribución geográfica de éstos, algunos universalmente conocidos, los tratados podían servir a la enseñanza en cualquier otro país” (Berg, 1889: V), indicando la utilidad de la naturaleza local para describir y estudiar el esquema universal de clasificación de las especies.

Lo mismo se reflejaría en los libros escritos por profesores de la Escuela de Farmacia como el libro *Apuntes de Botánica médica* de Ignacio Durañona de 1901 y su reedición mejorada en 1904 junto a J. A Domínguez (Figura 1B). Este libro trabaja especialmente la disciplina de la botánica, siendo en una primera mirada un compendio tradicional de esta área científica donde se explican la morfología y la fisiología de las plantas, la taxonomía y la fitografía, adoptando el sistema de clasificación de Van Tieghem.<sup>7</sup> Como libro dirigido hacia una botánica aplicada que estudia las partes útiles de los vegetales, se describen con mayor énfasis las plantas con cualidades médicas, las plantas terapéuticas y las plantas tóxicas. En este texto encontramos algunas menciones sobre la importancia de la flora del país y del estudio de las plantas originarias de las diferentes regiones, desde los climas más fríos como Tierra del Fuego o las regiones elevadas de los Andes, hasta las zonas tropicales del Chaco, insistiendo en que muchas “plantas no están descubiertas y que además podrían reemplazar con ventaja a muchas plantas extranjeras que importamos” (Durañona, 1901: 7).

Estos *Apuntes* estaban dirigidos tanto a principiantes como a estudiosos avanzados y maestros e incluían una descripción del estado de la Botánica y de su aplicación en la Medicina y la Farmacia. En su versión ampliada de 1904 incluyó un apéndice especial sobre el desarrollo de la Botánica en la Argentina, con referencias a naturalistas y publicaciones sobre la vegetación del territorio argentino desde mediados del

6 Rickard estaba radicado en Chile cuando fue contratado en 1862 como inspector de minas por Domingo Faustino Sarmiento, por entonces gobernador de la provincia de San Juan, con objeto de promover las exploraciones y presentaciones de informes relacionados con la industria (Camacho, 1970).

7 “Sistema Van Tieghem” remite al sistema de clasificación vegetal basado en la filogenia que representa las formas evolutivas entre los organismos propuesto por Philippe Édouard Léon Van Tieghem (1839-1914).



siglo XVIII (Durañona y Domínguez, 1904, t.2: 499). Entre las descripciones de las plantas, se encontraron también referencias a investigaciones locales contemporáneas, como el trabajo sobre la corteza de quebracho blanco de la región chaqueña del químico argentino Tomás Perón (1839-1889); ayudante de Miguel Puiggari (p) en las clases de química para farmacéuticos y profesor de medicina legal. Esta corteza era usada por los indígenas como febrífugo y es considerada sucedánea de la quina como antipalúdica (Amorin, 1996: 29-30).

La versión de 1904 vuelve sobre la importancia de encontrar especies nativas con más y mejores propiedades y principios activos que pudieran remplazar las traídas de otros países para así enriquecer la farmacopea nacional. En este sentido, imaginamos el impacto de las ideas de Juan Aníbal Domínguez, ya considerado en la época un naturalista americanista dado su interés por las plantas nativas y el conocimiento medicinal de las comunidades originarias (Pegoraro, 2009). La preocupación por estudiar y enseñar con especímenes del país y de la región en remplazo de una supuesta naturaleza transnacional era creciente y se profundizaba hacia inicios del siglo XX de la mano de varios naturalistas y estudiosos en diferentes ámbitos científicos y educativos (cf. García, 2007; 2010a, 2010b; García y Podgorny, 2016).

Tanto la Escuela de Farmacia como en otros ámbitos académicos locales, además de hacer énfasis en el conocimiento y la utilización de los recursos naturales del país y de la región sudamericana,<sup>8</sup> estaba asentada la importancia de las prácticas experimentales y naturalistas de recolección y preparación de especímenes de referencia, así como el acopio de objetos y modelos de representación de formas vegetales, estructuras anatómicas, funciones o procesos de alimentación de las especies, entre otros (García, 2010a). El Dr. Adolfo Mujica,<sup>9</sup> por ejemplo, fue enérgico en su lucha por la construcción de un laboratorio para la cátedra de botánica farmacéutica, solicitando mobiliarios especiales, colecciones didácticas e instrumentos, microscopios, aparatos de histología y fisiología vegetal (Figura 2) y materiales para el cuidado de las colecciones que se iban adquiriendo

**Figura 2.-** Elementos para realizar las prácticas en la Carrera Farmacia

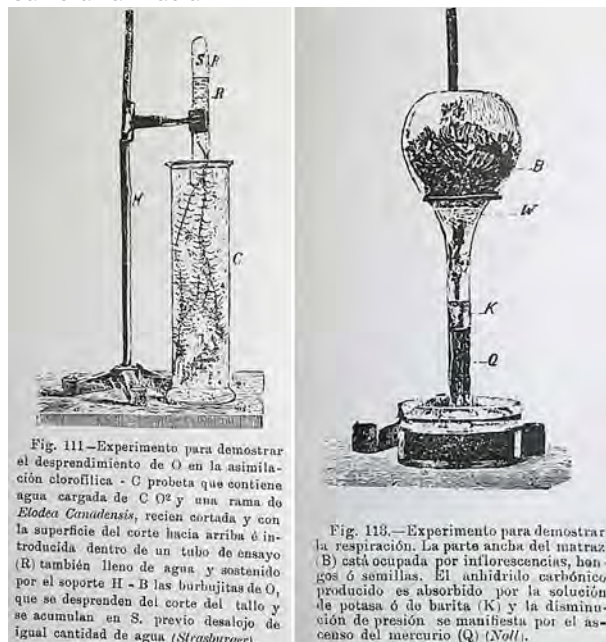


Fig. 111.—Experimento para demostrar el desprendimiento de O en la asimilación clorofílica. C probeta que contiene agua cargada de CO<sub>2</sub> y una rama de *Elodea Canadensis*, recién cortada y con la superficie del corte hacia arriba ó introducida dentro de un tubo de ensayo (R) también lleno de agua y sostenido por el soporte H-B las burbujitas de O, que se desprenden del corte del tallo y se acumulan en S. previo desalojo de igual cantidad de agua (Strasburger).

Fig. 113.—Experimento para demostrar la respiración. La parte ancha del matraz (B) está ocupada por inflorescencias, hongos ó semillas. El anhídrido carbónico producido es absorbido por la solución de potasa ó de barita (K) y la disminución de presión se manifiesta por el ascenso del mercurio (Q) (Noll).

En los *Apuntes de Botánica Médica* (1904) se incorporaron gráficos y esquemas explicativos para la realización de experimentos de observación fisiológica de los vegetales. Biblioteca del Museo de Farmacobotánica. FFYB, UBA.

y formando.<sup>10</sup> Asimismo, ayudó a Domínguez a conseguir fondos especiales para ampliar el local que albergaba al incipiente Museo de Farmacología (Domínguez, 1928).

Según Domínguez, la donación de sus colecciones y material de estudio a la Facultad de Ciencias Médicas tenía como expresa condición fundar “un museo destinado a reunir en él todos los materiales necesarios al estudio de la botánica y la materia médica argentina, y al mismo tiempo servir a la enseñanza de las diversas escuelas de la Facultad”, haciendo énfasis en que venía a llenar una necesidad, dado que se carecían hasta entonces “de los más elementales materiales para la enseñanza de la botánica”; con “un escaso material, reducido a pequeñas muestras de las drogas oficiales sin los correspondientes ejemplares de herbario para la farmacología y en absoluto de material indígena alguno” (Domínguez, 1928: 3). En este sentido, las ideas de investigación y de docencia dentro de las universidades, iban acompañadas de manera indisoluble con la creación de laboratorios, gabinetes y museos, con sus colecciones e instrumentos científicos (cf. Pegoraro, 2009; García 2010a).

En 1899, el entonces decano de la Facultad de Ciencias Médicas, el Dr. Enrique de Arca, enfático defensor de la disciplina expresaba: “El estudio teórico práctico de la Farmacia, en los laboratorios y el ejercicio de práctica farmacéutica en la Farmacia del Hospital de Clínicas;

8 Varios profesores de la Escuela de Farmacia realizarían contribuciones escritas como el profesor Juan Boeri, quien publicó entre 1902 y 1904 el Tratado de farmacognosia animal y vegetal, en cuatro tomos con descripción de las principales especies utilizadas en la farmacia y en 1909 el Manual de Farmacodinamia y Posología razonadas (Cignoli, 1953; Amorin, 1996). El mismo Museo de Farmacología comenzó en 1904 la publicación de folletos propios, donde se incluirían algunas lecciones de los profesores de la Escuela, como las de Ismael Astrada sobre farmacognosia (1905-1918), entre otros.

9 Adolfo Mujica (1868-1922), se destacó tanto en la docencia como en la política. Nació en Entre Ríos, hijo del farmacéutico español Miguel Mujica quien revalidó su título en el país. Adolfo recibió su título en 1889 y en 1895 se hizo cargo de la cátedra de Botánica médica hasta 1898, en que permuta la titularidad de Botánica Farmacéutica con Martín Spunch. También obtuvo el título de abogado y fue concejal de la capital federal, diputado nacional y ministro de Agricultura de la Nación (Hicken, 1923; Cignoli, 1953; Amorin, 1996)

10 Legajo docente de Adolfo Mujica. Archivo del Museo de Farmacobotánica, FFYB-UBA.

**Figura 3.-** Tambor para la recolección de plantas

Tambor para la recolección de plantas en *Flora Argentina* de Carlos Bettfreund. Biblioteca del Museo de Farmacobotánica (FFyB-UBA).

así como los trabajos prácticos de Botánica en jardines y herbarios y los estudios micrográficos, los estudios teórico-prácticos de Química orgánica, inorgánica y biológica, de Higiene y de Toxicología, han de dar el resultado que la Facultad persigue, de modo que esta importante rama de la ciencia de curar ocupe el rango que le corresponde”.<sup>11</sup>

En los comienzos del siglo XX, la enseñanza de la botánica médica y farmacéutica incluía prácticas experimentales y la alfabetización del lenguaje científico, la investigación y el estudio de la naturaleza mediante la observación visual, sensitiva y la experimentación. En muchos casos, los manuales o tratados incluyeron experimentos con aparatos e instrumentos de fisiología, microscopios, guías para la producción histológica y para la formación de herbarios. Este es el caso, por ejemplo, del libro *Flora Argentina* publicado en 1901 por el botánico alemán Carlos Bettfreund (preparador y colaborador del Museo de Buenos Aires en tiempos de Carlos Berg como director) que, incentivando la salida al campo, dedica el primer capítulo del tercer tomo a las prácticas de herborización (Figura 3). Asimismo, destaca la importancia de las prácticas de recolección de plantas y formación de colecciones propias para el estudio de la disciplina científica. Similar relevancia a estas prácticas se observó en libros extranjeros como *Botánica Farmacéutica* del español Rivas Mateo (1929), el cual incorporó en su tomo I “Botánica general y Criptogamia – las formas de hacer herbarios y la técnica microscópica”. Estos libros y otros textos de botánica farmacéutica y farmacognosia, como los del botánico alemán Ernest Gilg (1867-1933) formaron parte del repertorio de libros de estudiantes e investigadores durante la primera mitad del siglo XX. Varios de ellos se conservan hoy en la Biblioteca del actual Museo de Farmacobotánica.

<sup>11</sup> *Anales de la Universidad de Buenos Aires*, t.XV, 1899, p.29, citado en Cignoli, 1953:249.

Las prácticas de determinación de plantas, morfología vegetal y disecciones florales también eran incluidas en las clases de la Escuela de Farmacia. Al parecer el profesor Ildefonso Vattuone<sup>12</sup> introduciría en sus clases de botánica farmacéutica el uso del libro *Clave analítica de la Familia de las Plantas* de Eduardo Holmberg (1893) para la realización de los trabajos prácticos (cf. Amorín, 1996). En ese momento, Holmberg era profesor de botánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y confeccionó la clave con un sentido práctico sobre la base de las obras de Le Maoût y Decaisne, adoptando los nombres en español de las familias y con la adición de varias especies de la flora argentina. En su prólogo Holmberg explicaba su sencillo uso y aconsejaba a los estudiantes no iniciar las prácticas con pequeñas plantas o flores, sino con aquellas que pudieran ser examinadas a simple vista, luego con la ayuda de un lente y por último con el microscopio, dado que era indispensable “aprender a manipular los vegetales” (Holmberg, 1893: 5). Del mismo modo, el profesor Vattuone haría buen uso del *Manual de Manipulaciones de Botánica* (1912) de su maestro, el profesor Augusto Scala<sup>13</sup> (cf. Amorin, 1996); publicación perteneciente a la Biblioteca de difusión científica del Museo de la Plata,<sup>14</sup> utilizado como guía para las técnicas de preparaciones histológicas y microscópicas y para la realización de trabajos prácticos en microquímica vegetal. A su vez ofrecía recomendaciones de los recursos disponibles en el mercado local sobre la base de los propios ensayos del profesor Scala (García, 2010a).

Desarrollar las “habilidades manuales” era una preocupación creciente para el desarrollo de los estudios experimentales en ciencias naturales. El profesor Ángel Gallardo,

<sup>12</sup> Ildefonso Vattuone (1887-1952) obtuvo el título de farmacéutico en 1908 y se desempeñó como jefe del herbario del Museo de Farmacología entre 1912 y 1915. Estuvo vinculado a la cátedra de Botánica Farmacéutica como jefe de trabajos prácticos hasta 1922 y como titular entre 1934 y 1946. Fue también titular de Farmacognosia entre 1928 y 1934 y ejerció como profesor de Botánica en la Facultad de Agronomía y en la de Química y Farmacia de la Universidad Nacional de la Plata (Amorín, 1996).

<sup>13</sup> Augusto C. Scala (1880-1933) desarrolló la mayor parte de su carrera en la Universidad de La Plata, donde fue profesor desde 1912 y llegó a ser director interino del Museo de La Plata. Sus estudios farmacéuticos los inició en la Escuela de Farmacia de Buenos Aires y fue colaborador en las cátedras de Botánica Farmacéutica con Adolfo Mujica y Farmacognosia con Juan Boeri y en el Museo de Farmacología con J. A. Domínguez (Amorín, 1996).

<sup>14</sup> El Museo de la Plata comenzó en 1907 la edición de la Biblioteca de Difusión científica como parte del programa de extensión de la Universidad de La Plata con el objetivo de difundir trabajos científicos, manuales de enseñanza y trabajos de vulgarización científica de los profesores de la casa que circularon también por las bibliotecas populares y bibliotecas escolares del país (cf. García, 2010a:170-172).

por ejemplo, luego de su viaje a París entre 1900 y 1901,<sup>15</sup> introduce nuevas prácticas en sus clases de zoología destacando la necesidad de no limitarse a la exposición oral y de auxiliarse con los modelos y ejemplares naturales del gabinete y, a la vez, practicar en presencia del alumno “experimentos sencillos” para habituarlo a la manipulación personal de los objetos de estudio (Gallardo, 1907). Según él, su viaje le sirvió para adquirir “... la convicción de que era necesario introducir cuanto antes en nuestras enseñanzas universitarias, trabajos y manipulaciones prácticas a fin de que los alumnos se familiaricen desde el principio de sus estudios con la organización de los seres naturales, se interesen por la investigación personal y adquieran sobre todo la habilidad manual y el sentido crítico necesario para interpretar lo que ven y palpan. [...] el trabajo individual es indispensable para obtener naturalistas capaces de afrontar trabajos originales” (Gallardo, 1907: 115).

Según su testimonio, en 1902, al hacerse cargo como suplente del curso de zoología de los invertebrados, inició la práctica de “manipulaciones que resultaron bastante eficaces” (Gallardo, 1907: 116), con la observación y el dibujo, la disección y preparación microscópica de ejemplares característicos. Gallardo enseñó también en la Escuela de Farmacia, a cargo de la cátedra de Zoología General, Anatomía y Fisiología Comparadas. Su libro *Zoología* de 1909 fue escrito sobre la base de los apuntes taquigráficos de sus alumnos de Farmacia y adaptado a las primeras bolillas del programa (Gallardo, 1909:7); fue usado para estudiar la zoología médica durante las primeras décadas del siglo XX.<sup>16</sup>

Como veremos a continuación muchas de las colecciones que se conservan en el Museo de Farmacobotánica formaron parte de la materialidad que rodearon estos saberes y prácticas científicas, así como de las modalidades pedagógicas promovidas para su estudio (Figura 4).

15 Ángel Gallardo (1867-1934) fue discípulo de Carlos Berg en la Universidad de Buenos Aires y profesor de las cátedras de zoología en la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, miembro del Consejo Nacional de Educación y director del Museo Nacional de Historia Natural de Buenos Aires entre 1911 y 1916. Gracias a la buena situación económica familiar, Gallardo pudo realizar varios viajes a Europa para completar su formación y visitar instituciones. Después de graduarse de ingeniero, visitó el viejo continente entre 1895 y 1896 donde tomo cursos de Biología en París (García, 2005).

16 En la década de 1990, una sección de zoología médica fue creada en el Museo de Farmacobotánica en homenaje a Ángel Gallardo “con algunas colecciones de animales y de zoofármacos que perpetúan su trayectoria como permanente evocación” (Amorín, 1996:42). Su sucesor en la cátedra, Ángel Bianchi Lischetti (1886-1968) fue colaborador de Juan Domínguez en sus clases y en el Museo, organizando, clasificando y conservando las colecciones zoológicas de la materia médica. En 1914 Lischetti fue también comisionado a Misiones para recolectar material botánico y zoológico para el Museo.

**Figura 4.-** Antiguo Instituto de Botánica y Farmacología



c.1920. Archivo del Museo de Farmacobotánica (FFyB-UBA).

### Colecciones históricas del Museo de Farmacobotánica

La ampliación de la enseñanza de las ciencias naturales en la Argentina, durante la segunda mitad del siglo XIX, estuvo vinculada a un proceso de reorganización y expansión de la instrucción pública, que propició la creación de nuevas instituciones educativas en diferentes puntos del país y, con ello, la creación de gabinetes y museos de historia natural con elementos de diversa procedencia. En este proceso se produjo un aumento exponencial en la demanda de materiales didácticos para colegios y universidades y se multiplicaron las experiencias de exploración y recolección de especies. Así como las prácticas coleccionistas en diferentes puntos del país y de la mano de funcionarios, docentes, estudiantes y aficionados, formando circuitos y redes de circulación e intercambio de objetos e información científica en todo el territorio argentino (cf. Podgorny, 2000; Podgorny y Lopes, 2008; Pegoraro 2009; Farro, 2009; García, 2011; García y Podgorny, 2016; García y Mayoni, 2019).

En la historia del Museo de Farmacobotánica encontramos varios ejemplos de estas prácticas, principalmente de la mano de Domínguez que, además de su actividad docente, mantenía una amplia red de referentes y una gran actividad epistolar. Gracias a los viajes y exploraciones, pero también a donaciones y hábiles intercambios y canjes, Domínguez logró enriquecer al Museo con importantes colecciones.

Por ejemplo, colecciones de plantas de carácter histórico se conservan actualmente en el Herbario BAF,<sup>17</sup> como las formadas por los botánicos Pablo G. Lorentz y Jorge Hieronymus en sus exploraciones para la Academia Nacional de Ciencias durante el siglo XIX (cf. Tognetti, 2004) con numerosas especies de Córdoba, Tucumán, Catamarca y Salta. En este herbario se conservan co-tipos de especies que habían sido enviadas para su clasificación al

17 Sigla de identificación del Herbario del Museo (Buenos Aires Farmacia) según el INDEX – Herbariorum.



**Figura 5.-** Herbario de Pablo G. Lorentz de la Provincia de Entre Ríos



Herbario BAF. Museo de Farmacobotánica (FFyB-UBA).

botánico August Grisebach de la Universidad de Göttingen y publicadas en *Plantae Lorentzianae* (1874) y *Symbolae ad Floram argentinam* (1879); publicaciones consideradas la base del conocimiento sistemático de la flora argentina (cf. Hicken, 1923). Los ejemplares fueron obtenidos por Domínguez gracias a la concesión del gobierno alemán en el año 1914, luego de obsequiarle al Emperador Guillermo II las primeras publicaciones realizadas por el museo de un material documental inédito obtenido por donación del naturalista Aimé Bonpland (Instituto Nacional de Botánica, 1944).<sup>18</sup> Domínguez también conseguiría las últimas colecciones realizadas por Lorentz durante su actividad como profesor de historia natural en el Colegio Nacional de Concepción del Uruguay entre 1876 y 1881 (cf. García y Mayoni, 2019),<sup>19</sup> en particular los herbarios de la fitografía de la Provincia Entre Ríos, base de la publicación *La vegetación del Nordeste de la Provincia de Entre Ríos* (1878). (Figura 5)

También el Museo obtuvo la colaboración de botánicos extranjeros radicados en el país para la formación de colecciones, como el alemán Federico Kurtz, contratado por la Academia Nacional de Ciencias en Córdoba (Tognetti, 2004), a quien Domínguez habría conocido en un viaje a la provincia y de quien aprendería la técnica de herborización. Kurtz clasificó parte de las colecciones recolectadas por Domínguez (Pegoraro, 2009). También trabajaron para el Museo el botánico austriaco Eugenio Aufran como prepa-

rador del herbario, radicado en la Argentina desde 1901,<sup>20</sup> y el inglés Miles Pennigton quien fue enviado por el Museo a Tierra del Fuego para “recoger material típico de la región”.<sup>21</sup>

Del mismo modo, gracias al vínculo con diferentes personalidades del ámbito político y militar, Domínguez consiguió formar para el Museo una colección proveniente de las comisiones de límites argentino-chilenas con especies botánicas de alta montaña de todo el recorrido cordillerano (cf. Instituto Nacional de Botánica, 1944). Los ejemplares reunidos fueron organizados por Aufran y determinadas por el botánico y micólogo Carlos Spegazzini.<sup>22</sup> Este herbario fue distribuido en tres colecciones, una para el propio Museo, otra para el Museo de Valparaíso de Chile dirigido por el profesor Carlos E. Porter e incorporada en 1904 y la tercera fue finalmente obsequiada a los ingleses por intermedio del Lord Moynihan, delegado del Rey Jorge V en ocasión de su asistencia a las Jornadas Médicas Argentinas en 1931 (cf. Instituto Nacional de Botánica, 1944: 9-10).

Otro ejemplo a destacar es la creación en el Museo de una sección especial vinculado a las prácticas medicinales de pueblos originarios que, hacia 1928, contenía diversos elementos obtenidos mediante donaciones, canjes y diferentes viajes realizados principalmente al norte del país, provincias de Chaco y Formosa. Esta sección se llamaba *Historia de la medicina americana pre y postcolombiana, Medicina Popular, Etnografía Médica y Antropología*, que contenía un “reducido pero interesante grupo de objetos de Perú, Bolivia, y norte argentino en el que se destacaban cráneos, huacos, tumis, objetos de piedra, amuletos y algunos manuscritos” (Domínguez, 1928:15). Una sección destinada especialmente, según Domínguez, al interés de los médicos y farmacéuticos de todo el país y a la espera de agrandar la sección con nuevos elementos. En este sentido, una mirada moderna de la farmacognosia proveniente de la escuela alemana y la obra de Alexander Tschirch impulsó a Domínguez hacia el interés por los aspectos históricos y etnográficos de las plantas medicinales, lo que es conocido como farmacohistoria y farmacoetnología (Tschirch, 1911; Domínguez, 1918).<sup>23</sup>

Actualmente la colección antropológica cuenta con más

18 El actual Archivo Bonpland contiene manuscritos, álbumes de viaje y cartas epistolares del botánico Aimé Bonpland, donado en el año 1905 al Museo por el bisnieto Pompeyo Bonpland, estudiante de Medicina en ese momento. Pompeyo Bonpland realizó su tesis con material de este archivo y fue dirigido por el propio Juan A. Domínguez (cf. Anconatani, Riabis y Wagner, 2020).

19 “Cartas de donación del Herbario de Entre Ríos de Pablo G. Lorentz al Museo de Farmacobotánica de la Universidad de Buenos Aires. 1911. Solicitud de su fundador Juan A. Domínguez y entrega por intermedio del profesor Ildefonso Vattuone”. Archivo del Museo de Farmacobotánica, FFyB-UBA.

20 Información recuperada de <https://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.person.bm000000306>

21 Memoria del Museo de Farmacología, 8 de septiembre de 1905. Archivo Juan Domínguez del Museo de Farmacobotánica. FFyB-UBA. Recuperado de Pegoraro, 2009: 124.

22 Eugenio Aufran publicó en 1908 este trabajo en las memorias “Resultados botánicos de la Comisión de Límites argentino-chilena, en 1903, bajo las órdenes del Coronel Sir Thomas H. Holdich” incluida en la publicación oficial *La Frontera Argentino-Chilena. Demarcación general 1894-1906: Oficina de límites internacionales*, t.1. Buenos Aires: Talleres gráficos de la Penitenciaría nacional, 1908, pp. 477-497.

23 Entre los miembros de la cátedra de farmacognosia a cargo de Domínguez, el profesor Ismael Astrada era el que se encontraba especialmente familiarizado con la escuela alemana dado su conocimiento del idioma y habría sido, a la distancia, discípulo del propio Tschirch (Amorín, 1989).



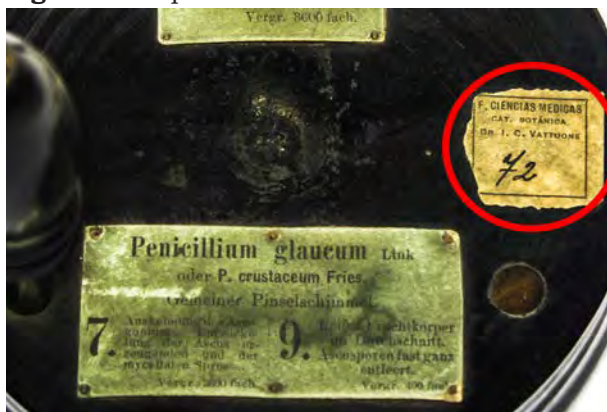
de 300 piezas provenientes de pueblos andinos, de la región pampeana, Tierra del Fuego y del Gran Chaco. Por ejemplo, el Museo consiguió elementos de origen incaico por medio del presidente Augusto Leguía y Salcedo de Perú en 1924 gracias al envío al presidente de copias de los documentos del archivo Bonpland relacionados con el paso de Humboldt por la ciudad de Lima (Instituto Nacional de Botánica, 1944). Se destacan también piezas de los pueblos originarios chaqueños (qom, moqoit, pilagá, wichí, chorote, nivakle y vilela) tales como pipas, flechas y arcos y un traje de Chamán wichí con vinchas, collares y tobilleras de plumas, que se utilizaba en la ceremonia de “expulsión de enfermedades” que incluía el uso del *jatáj* o cebil (Domínguez y Pardal, 1937). Según el catálogo de 1944 algunas de estas piezas habrían sido obsequiadas por el Coronel Abraham Schweizer partícipe de la Guerra del Chaco.

En este sentido encontramos que el Museo se organizaría en “secciones” en función de las especies más estudiadas y para enseñar determinados temas exponiendo una diversa selección de objetos. Práctica que continua al día de hoy, visible en la mencionada sala de antropología, donde textiles, pipas e instrumentos medicinales de pueblos originarios se exhiben junto a muestras de materia médica como la kallawayaya del noreste argentino, el hataj (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, Leguminosae), yahé y ayachuasca del Alto Amazonas (*Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) Morton, Malpighiaceae), tubos y calabaza de curare, flores y semillas de miaya (*Datura stramonium* L., Solanaceae), entre otras.<sup>24</sup>

Por otra parte, el Museo heredó diversos materiales de las antiguas cátedras de la Escuela de Farmacia, principalmente de las asignaturas Botánica farmacéutica y Farmacognosia, que poseían un vínculo más estrecho con el Museo a través de sus docentes. Hasta el momento no se conoce exactamente cuándo estas colecciones fueron trasladadas de las cátedras al Museo y comenzaron a formar parte de su patrimonio, pero se estima que haya sido en tiempos de la reorganización de los estudios de farmacia de mediados del siglo XX que devino en la creación de la nueva Facultad de Farmacia y Bioquímica en 1957. En este movimiento el Museo fue también cambiado de jurisdicción académica y trasladado del antiguo edificio de la Facultad de Ciencias Médicas (Av. Córdoba 2122, actual Facultad de Ciencias Económicas) hacia los nuevos establecimientos de la naciente Facultad en la calle Junín al 900.

El Museo recibió entonces una importante cantidad de objetos como láminas murales, modelos, material para proyecciones luminosas, muestrarios de productos vegetales naturales e industrializados y otros instrumentos científicos como microscopios, balanzas de precisión, instrumentos de medición, muflas y elementos pertenecientes a los antiguos laboratorios de trabajos prácticos. Varios de estos materiales poseen etiquetas de la Facultad de

**Figura 6.-** Etiqueta de la Facultad de Ciencias Médicas



Etiqueta de la Facultad de Ciencias Médicas, Cátedra de Botánica. Prof. Ildefonso Vattuone sobre la base de un modelo Brendel. Museo de Farmacobotánica (FFyB-UBA).

Ciencias Médicas y de las cátedras a las que pertenecieron, la más presente, la de Botánica farmacéutica en tiempos en que Ildefonso Vattuone fue titular, entre 1934 y 1946,<sup>25</sup> colocadas posiblemente en alguna instancia de inventariado y revisión del patrimonio de la Facultad (Figura 6).

Como sucedió con otros gabinetes y museos de instituciones educativas, una gran parte de los objetos y las colecciones adquiridos para su equipamiento eran comprados en el extranjero, en especial en las grandes casas comerciales europeas de materiales científicos (García, 2007; García y Podgorny, 2016; Mayoni, 2019; Mayoni, 2020). Entre ellas, la casa Hachette et. cia. de Paris; la firma alemana Robert Brendel de modelos botánicos; la editorial Schreiber de Berlín de láminas murales; la casa Krantz de Bonn de colecciones de minerales y fósiles; la casa francesa Molteni de productos para proyección luminosa; los productos de la casa parisina Deyrolle y de la industria alemana Koehler y Volckman y co., entre las más presentes en el territorio argentino (Mayoni, 2019). Materiales que circularon a nivel global hacia finales del siglo XIX y comienzos del siglo XX y se han encontrado en gabinetes y museos de toda la región iberoamericana y de diferentes ámbitos educativos.<sup>26</sup>

Así, junto a los libros, las lecciones eran acompañadas por imágenes y objetos tridimensionales que reproducirían esquemas y formas visuales de las especies consideradas representativas de los diferentes grupos de seres vivos y con cierta estandarización en la construcción de gráficos y presentación de la información científica (cf. Hopwood, Schaffer y Secord, 2010). Este aspecto resulta evidente al comparar grabados y esquemas incorporadas en libros de enseñanza y tratados, con las

<sup>25</sup> Ver nota 12.

<sup>26</sup> En los últimos años se han incrementado en gran medida los estudios sobre materiales e instrumentos para la enseñanza científica en diferentes países. De la región iberoamericana se destacan, entre otros, los trabajos de Bertomeu Sánchez y García-Belmar (2002), López-Ocón Cabrera, Aragón y Pedrazuela (2012), Cabral, Salgueiro y Pita (2012), Marín Murcia (2014), Gomes (2014), Marchi da Silva (2015), Borges de Faria (2017), Guijarro Mora (2018), Meloni y Alcántara (2019).

<sup>24</sup> Para mayor conocimiento de las colecciones del Museo se puede visitar el nuevo sitio <http://farmacobotanica.org/> y un recorrido virtual por las salas desde el link <http://museovirtual.farmacobotanica.org/>

**Figura 7.-** Lámina y modelo de *Marchantia polymorpha*

Ejemplo de la especie *Marchantia polymorpha* representada en una lámina de la serie de Leopold Kny que posee firma de K. Müller -colección CNBA y dos modelos botánicos Robert Brendel de la especie (gameto femenino y esporangio) -colección Museo de Farmacobotánica (FFYB-UBA).



especies representadas en modelos tridimensionales y láminas murales. Parte de este fenómeno se vincula con el proceso de creación de las imágenes y las decisiones y convenciones sobre la presentación visual de la naturaleza que pesaron sobre la fabricación de objetos y colecciones científicas; así como la interrelación entre especialistas, artistas, editores y productores. En muchos casos los especialistas guiaron la fabricación de láminas y modelos tridimensionales o eran convocados para supervisar o validar las representaciones y la organización y clasificación de las colecciones (Figura 7) (cf. Bucchi, 1998; de Chadarevian y Hopwood, 2002; Hopwood, 2002; 2005).

Entre algunos ejemplos estudiados, se han encontrado relaciones entre científicos y editores y fabricantes para la producción de diferentes dispositivos. Como en el caso del botánico alemán Karl Müller que figura como colaborador en la fabricación de modelos Brendel y se identificó en la producción de imágenes para la colección de las láminas murales del profesor alemán de fisiología botánica Leopold Kny<sup>27</sup> (1841–1916, Colegio de Agricultura de Berlín), que a su vez fue también colaborador de la firma Brendel para la producción de modelos botánicos

de cortes transversales de ovarios y frutos (Brendel 1913-1914).<sup>28</sup>

Las representaciones en vistas, cortes y ampliaciones a escala de estructuras microscópicas fue una característica de la presentación visual de las especies en este tipo de objetos. En este sentido el análisis de los contenidos, organización y formas de producción de estos materiales resultan relevantes para el análisis de la retórica material y visual que tuvo lugar en la época por medio de estos dispositivos que se incorporaron a los procesos de comunicación de las ciencias (Van Reybrouck, De Bont y Rock, 2009) presentando al mismo tiempo el qué y el cómo de los saberes y las prácticas científicas (Wise, 2006).

Analizando el contenido de una de las colecciones más estudiadas en el marco de esta investigación, los modelos botánicos de la firma Robert Brendel, observamos cómo la oferta comercial y la información expresada en

27 Editadas por la firma Paul Parey de Berlín, se pueden visualizar en el repositorio digital <https://www.huntbotanical.org/art/show.php?12>

28 Brendel también habría recibido la colaboración de otros profesores alemanes como Emerich Ráthay, Otto Müller y Richard Kolkwitz (Brendel 1913-1914: 1-4). También tuvo el apoyo del Instituto Botánico de la Universidad de Budapest para la confección de modelos histológicos y la colaboración del suizo J. Anton Pestalozzi (1871-1937) y del botánico alemán G. Höestermann de Dahlem (Berlín) para la confección de plantillas para modelos de hoja móvil de demostración de diferentes principios de fuerza en el tallo y la raíz (Brendel, 1913-1914).

los catálogos también reflejaron la retórica de las ciencias en tanto que indicaba una producción bajo las convenciones del conocimiento y las prácticas científicas de la disciplina. La empresa alemana Robert Brendel tuvo la particularidad de ser una de las casas comerciales especializadas con la oferta más amplia en materia de modelos tridimensionales botánicos de la época, llegando a ofrecer más de 200 modelos de especies vegetales hacia 1914.<sup>29</sup> Estos modelos eran realizados a escala y, en algunos casos, con elementos desarmables para el estudio de las estructuras internas o presentadas en varios objetos para representar procesos de reproducción o crecimiento en etapas, entre otros detalles (cf. Mayoni, 2016). Su catálogo comercial se organizaba según el criterio de clasificación taxonómica de Adolf Engler (1844-1939), ofreciendo un primer índice de especies en orden alfabético y de agrupación por familias. También organizó el catálogo de las especies representadas según las características generales y los principales usos e intereses sobre las especies vegetales. Así un listado se despliega para mayor detalle y descripción de los modelos organizado en “series”, de I a XIV: “algas y hongos, musgos y criptogamas vasculares”, “flores de los bosques y praderas, malezas y parásitos”, “plantas cultivadas, de importancia agrícola”, “plantas ornamentales” y “plantas venenosas”, por mencionar los grupos más numerosos del catálogo (cf. Brendel, 1913-1914).

Entre las especies representadas con más cantidad de vistas y modelos individuales se destacan la *Puccinia graminis* Pers. (Pucciniaceae - Basidiomycota) correspondientes a la serie de algas, hongos y musgos del catálogo, que es representado en 7 modelos, mostrando las formas de infestación de una epidermis vegetal en las diferentes fases; un tipo de hongo que afecta principalmente a las gramíneas. Y la especie de musgo *Merchantia polymorpha* (Merchantiaceae – Briophyta) fue representada también en 7 modelos que muestran diferentes estructuras anatómicas ampliadas: gameto masculino y femenino, anteridio, arquegonio, esporangio, taza con yemas y la yema individual.

En relación a la colección perteneciente al Museo de Farmacobotánica de la Universidad de Buenos Aires, la misma posee 132 modelos completos y de otros 15 se conservan solo las bases con sus etiquetas, pero sin su modelo, que están perdidos, haciendo un conjunto de 147 piezas identificadas. Se estima que la colección original llegó a tener unos 150 modelos, según una carta de Adolfo Mujica de 1916 en la que reclamaba a la Facultad un armario para su correcta guarda,<sup>30</sup> por lo que es posible que se conozca casi la totalidad de la colección original adquirida. Analizando

el conjunto observamos que las series más representadas en esta colección son la serie I de algas, hongos y musgos con 35 modelos de los 49 ofrecidos en el catálogo Brendel (conservando toda la serie de *Puccinia graminis* y *Merchantia polymorpha*), la serie VII perteneciente a las “flores de bosques y praderas, malezas y parásitos de la fanerógama” con otros 19 modelos de los 46 y la serie V de “plantas venenosas” con 18 modelos de los 32 ofertados; asimismo se adquirió de forma completa la serie XII de inflorescencias (14 modelos) y varias representaciones de cortes transversales de frutos y ovarios.

Esta selección resulta acorde a los intereses de la Escuela de Farmacia para la enseñanza de la botánica y su aplicación basada en el estudio de la morfología, el crecimiento y las principales funciones de las plantas, con énfasis en las plantas tóxicas, con propiedades medicinales, pero también con un importante interés en el estudio de las especies de hongos y parásitos que afectan a cultivos y plantas útiles para la industria agrícola. Por ejemplo, en el libro *Apuntes de Botánica médica* que analizábamos en el apartado anterior, en su primera edición de 1901, el profesor Durañona dedica conferencias especiales al estudio de los hongos y una particular al estudio de la especie *Claviceps purpurea* Tul. (Clavicipetaceae - Ascomycota), un tipo de hongo parásito que afecta a las gramíneas, principalmente a las plantas de cereales como la cebada, el trigo y el centeno (Durañona, 1901. Conferencia 33). El Museo posee los 4 modelos Brendel ofrecidos en el catálogo que representan las microestructuras: 1. Esclerocio con estromas, 2. Cabeza madura, 3. Sección de la cabeza con 3 peritecios, uno de los cuales muestra los tubos de esporas, 4. Tubo de esporas (de vidrio) con las esporas en forma de hilo (Figura 8).

El estudio de esta especie resulta indispensable para la farmacia y la medicina por la gran cantidad de compuestos farmacológicamente activos que contiene; es causante de la enfermedad llamada ergotismo y durante el siglo XX fue también la base para la síntesis de nuevas drogas alucinógenas (cf. Wagner, Varela, Anconatani y Ricco, 2017). Al día de hoy el Museo tiene una sección expositiva destinada a estos temas y a la caracterización de la especie del hongo *Claviceps purpurea* Tul. junto a otras colecciones especiales de hongos conservados en fluidos y modelos de setas en yeso y cera.

## Discusión y conclusiones generales

Los ejemplos aquí presentados nos permiten pensar diversas cuestiones sobre la batería de recursos materiales y visuales que rodeaban a los alumnos para el estudio de la naturaleza a través de ciertas especies y formas de presentación visual del conocimiento y la evidencia científica. Los objetos y colecciones en estos espacios especializados formaron parte del aprendizaje de las convenciones y el lenguaje requerido para poder “leer” y comprender la base de acción de la disciplina científica. Como destacara Podgorny hacia el 2005, la materialidad y la visualización resultan dos de los rasgos

29 La firma Brendel tuvo actividad entre las décadas de 1860 y 1920 y fabricantes contemporáneos como las empresas francesas Auzoux y Deyrolle ofrecieron una cantidad significativamente menor de modelos de especies vegetales en dicha época (Mayoni, 2016).

30 Legajo docente de Adolfo Mujica. Archivo del Museo de Farmacobotánica. FFyB-UBA.



**Figura 8.-** *Claviceps purpurea*

Serie Brendel de la especie *Claviceps purpurea* Tul. (10g.) -cornezuelo y su ampliación en secuencia- Museo de Farmacobotánica (FFyB-UBA).

ineludibles para pensar la historia de los museos. Asimismo, desde el análisis de las prácticas científico-educativas, se constata que la transmisión de contenidos a través de las lecciones demostrativas con objetos y colecciones, en complemento con los ejercicios prácticos y el trabajo personal del alumno, buscó la transmisión de un espíritu científico, al igual que en otros espacios de formación en construcción de la época (cf. García, 2010a), sobre la base de la experimentación, la observación y el análisis crítico de los procesos.

El estudio de los artefactos interpela y nos invita a nuevas preguntas en torno al sentido de su existencia y participación en la acción comunicativa de las ciencias, donde entender el “qué” es posible a través de la comprensión simultánea del “cómo”, “donde”, “cuándo” y “para quién” (Secord, 2004: 663-4). Una mirada transversal que nos permite conocer las formas de movilización, apropiación y transformación en un ámbito científico-educativo específico.

En este sentido es posible analizar a través de las colecciones que aún se conservan en el Museo de Farmacobotánica de la Universidad de Buenos Aires, el conjunto de intereses, prácticas científicas y modalidades de enseñanza que formó parte del desarrollo de la disciplina. Elementos que actualmente se resignifican en torno a nuevas inquietudes sobre el estudio y la enseñanza de la botánica médica y farmacéutica, la etnobotánica y la etnomedicina. En este punto, la presente investigación espera otorgar nuevas oportunidades para el estudio de la historia institucional, así como contribuir a la historia de los museos, de las ciencias y la educación en la Argentina.

### Agradecimientos

La presente investigación se realiza en el marco de las becas internas postdoctorales del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Argentina (CONICET). Agradezco especialmente a mis directores Dr. Leoncio López-Ocón Cabrera (Instituto de Historia-CCHS-CSIC, Madrid) y Dr. Marcelo Luis Wagner (FFyB-UBA) por su atenta lectura y comentarios sobre este trabajo. Se agradece también al Farm. Leonardo Anconatani especialista en etnobotánica por su atención a las cuestiones de la Farmacognosia moderna y la escuela alemana. Por último, agradezco a todos mis compañeros y colegas de la Cátedra y Museo de Farmacobotánica (FFyB-UBA) por los momentos de discusión y el trabajo compartido para la recuperación de la historia y el patrimonio de la institución de la que se nutre constantemente esta investigación.

### Abreviaturas

AHUBA: Archivo Histórico de la Universidad de Buenos Aires. Fondo Rectorado. Buenos Aires, Argentina.  
 CNBA: Colegio Nacional de Buenos Aires, Argentina.  
 FFyB-UBA: Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, Argentina.



## Bibliografía

- Amorin, J.L. (1989). "Pablo Ismael Astrada". *Revista Farmacéutica* 7 (1): 41-43.
- Amorin, J.L. (1996). *Los precursores de la Farmacobotánica argentina*. Ediciones Hector A. Macchi, Buenos Aires.
- Anconatani, L.M.; Riabis, M.; Wagner, M.L. (2020). "Historia inédita y actualidad del archivo Bonpland en el Museo de Farmacobotánica Juan Aníbal Domínguez (FFyB-UBA)". *Bonplandia* 29 (2):181-190. DOI: <http://dx.doi.org/10.30972/bon.2924433>
- Appadurai, A. (ed.) (1986). *The Social Life of Things: Commodities in Cultural Perspective*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Apple, R. D.; Downey, G.J.; Vaughn, S.L. (eds.) (2012). *Science in print: Essays on the history of science and the culture of print*. University of Wisconsin Press, Wisconsin. ProQuest Ebook Central.
- Berg, C. (1887). *Tratado Elemental de Zoología. Tomo I, Zoología general*. Imprenta de M. Biedma, Buenos Aires.
- Berg, C. (1889). *Tratado Elemental de Zoología. Tomo II*. Imprenta de M. Biedma, Buenos Aires.
- Bertomeu Sánchez, J.R.; García-Belmar, A. (2002). *Abriendo las cajas negras. Colección de instrumentos científicos de la Universidad de Valencia*. Universidad de Valencia, Valencia.
- Bettfreund, C. (1901). *Flora Argentina: Recolección y descripción de plantas vivas por C. Bettfreund; dibujadas del natural por la Señorita Emma Napp y litografiadas por F. Burmeister*. Tomo Tercero. Librería Alemana van Woerden & Cia., Buenos Aires.
- Borges de Faria, J. (2017). *Os quadros parietais nas escolas do Sudoeste brasileiro (1890-1970)*. [Tesis doctoral]. Pontificia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo.
- Brendel, Robert (1913-1914). *Preisliste der Botanischen Modelle von R. Brendel*. Hermann Klokow, Berlin.
- Bucchi, M. (1998). "Images of Science in the Classroom: Wall-charts and Science Education 1850-1920". *The British Journal for the History of Science* 31 (2): 161-184. <https://www.jstor.org/stable/4027761>
- Buchbinder, P. (2010). *Historia de las universidades argentinas*. 2da edición. Editorial Sudamericana, Buenos Aires.
- Buonocore, D. (1974). *Libreros, editores e impresores de Buenos Aires. Esbozo para una historia del libro argentino*. Bowker Editores, Buenos Aires.
- Cabral, C.; Salgueiro, L.; Pita, J.R. (2013). *Retratos de Farmacognosia (séculos XIX-XX)*. Faculdade de Farmácia. Universidade de Coimbra. Centro de Estudos Farmacêuticos-CEU/ Faculdade de Farmácia. Universidade de Coimbra; CEIS20-Grupo de História e Sociologia de Ciência e da Tecnologia, Universidade de Coimbra, Coimbra.
- Camacho, H. (1970). "El centenario de la obra "Rudimentos de Mineralogía" de Juan Ramorino y los primeros textos sudamericanos de Historia Natural". *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias* 48: 489-493.
- Camacho, H. (1971). *Las ciencias naturales en la Universidad de Buenos Aires*. Eudeba, Buenos Aires.
- Cignoli, F. (1947). *Historia de la Asociación Farmacéutica y Bioquímica Argentina: 1856-1946*. Asociación Farmacéutica y Bioquímica Argentina, Buenos Aires.
- Cignoli, F. (1953). *Historia de la farmacia argentina*. Rosario: Librería y Editorial Ruiz
- Dannehl, K. (2009). "Objects biographies. From production to consumption", en Harvey, K. (ed.) *History and Material Culture. A student's guide to approaching alternative sources*. Routledge. Londres: 123-138.
- Daston, L. (2004). "Type Specimens and Scientific Memory". *Critical Inquiry* 31 (1): 153-182. <https://www.jstor.org/stable/10.1086/427306>
- Daston, L. (2014). "Beyond Representation", en Coopmans, C., Vertesi, J., Lynch, M., Woolgar, S. (eds) *Representation in Scientific Practice Revisited*. The MIT Press. Cambridge: 319-322.
- De Chadarevian, S.; Hopwood, N. (2002). *Models: The third dimension of science*. Stanford University Press, California.
- Díaz de Guijarro, E.; Baña, B.; Borches, C.; Carnota, R. (2015). *Historia de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales*. Universidad de Buenos Aires. Edeuba, Buenos Aires.
- Domínguez, J.A. (1918). *Farmacoenología*. Bossio & Bigliani, Buenos Aires.
- Domínguez, J.A. (1928). *El Instituto de Botánica y Farmacología de la Facultad de Ciencias Médicas de Buenos Aires*. Imprenta de la Universidad, Buenos Aires.
- Domínguez, J.A.; Pardal, R. (1937). *El hataj, droga ritual de los indios Matakó: historia de su empleo en América*. Prensa Médica Argentina, Buenos Aires: 37-48.
- Durañona, L. (1901). *Apuntes de Botánica Médica. Tomadas taquígraficamente al profesor*. Librería de Antonio García Santos, Buenos Aires.
- Durañona, L.; Domínguez, J.A. (1904). *Apuntes de Botánica Médica, tomo 1 y 2*. Galileo, Buenos Aires.
- Farro, M. (2009). *La formación del Museo de La Plata. Coleccionistas, comerciantes, estudiosos y naturalistas viajeros a fines del siglo XIX*. Prohistoria, Rosario.
- Findlen, P. (2006). "Anatomy Theaters, Botanical Gardens, and Natural History Collections", en Park, K., Daston, L. (eds) *The Cambridge History of Science*, volume 3. Cambridge University Press. Nueva York: 272-289.
- Fyfe, A.; Lightman, B. (eds) (2007). *Science in the Marketplace: Nineteenth-Century Sites and Experiences*. University of Chicago Press, Chicago.
- Gallardo, A. (1907). "La enseñanza de la Zoología en la Universidad de Buenos Aires". *Revista de la Universidad de Buenos Aires*, año IV, tomo VII: 115-132. <http://ufdc.ufl.edu/AA00013094/00007/115j>
- Gallardo, A. (1909). *Zoología*. Ángel Estrada y cia., Buenos Aires.
- García, S.V. (2005). "Herencia biológica en el discurso de naturalistas argentinos de principios del siglo XX", en Miranda, M., Vallejo, G. (comp) *Darwinismo social y eugenesia en el mundo latino*. Siglo XXI, Buenos Aires: 563-599.
- García, S.V. (2007). "Museos escolares, colecciones y la enseñanza elemental de las ciencias naturales en la Argentina de fines del siglo XIX". *História, Ciências, Saúde - Manguinhos* 14 (1): 173-196. <https://doi.org/10.1590/S0104-59702007000100009>
- García, S.V. (2010a). *Enseñanza científica y cultura académica. La Universidad de La Plata y las Ciencias Naturales (1900-1930)*. Prohistoria, Rosario.

- García, S.V. (2010b). "Museos y materiales de enseñanza en la Argentina, 1890-1940", en Castilla, A. (comp) *El museo en escena. Políticas culturales y museos en América Latina*. Paidós. Buenos Aires: 91-109.
- García, S.V. (2011). "Museos provinciales y redes de intercambio en la Argentina", en: Lopes, M., Heizer, A. (eds) *Coleccionismos, prácticas de campo e representações*. EDUEPB, Campina Grande: 75-91.
- García, S.V.; Mayoni, M.G. (2019). "Los museos y gabinetes de ciencias en los colegios nacionales de la Argentina (1870-1880)". *Boletín del Instituto de Historia Argentina y Americana "Dr. Emilio Ravignani"* 3 (50): 135-162. <https://www.redalyc.org/jatsRepo/3794/379458207009/html/index.html>
- García, S.V.; Podgorny, I. (2016). "El museo en los tiempos de la historia natural. Colecciones y universidad alrededor de 1900". *Códice. Boletín Científico y Cultural del Museo Universitario Universidad de Antioquia* 17 (29): 18-29. [https://jissuu.com/muua/docs/c\\_dice\\_29\\_web](https://jissuu.com/muua/docs/c_dice_29_web)
- Gomes, I. (2014). *Os Museus Escolares de História Natural - Análisis histórica e perspectivas de futuro (1836-1975)* [Tesis doctoral]. Universidad de Lisboa, Lisboa.
- Guijarro Mora, V. (2018). *Artefactos y acción educativa. La cultura del objeto científico en la enseñanza secundaria en España (1845-1930)*. Dykinson-Universidad Carlos III. Madrid.
- Halperin Donghi, T. (2013). *Historia de la Universidad de Buenos Aires [1962]*. Eudeba. Buenos Aires.
- Harvey, K. (ed) (2009). *History and Material Culture. A student' guide to approaching alternative sources*. Routledge. Londres, New York.
- Heering, P. (2011). "Tools for investigation, Tools for Instruction: Potential Transformations of instruments in the Transfer from Research to Teaching", en P. Heering, P., Wittje, R. (eds) *Learning by Doing. Experiments and Instruments in the History of Science Teaching*. Franz Steiner Verlag. Stuttgart.
- Hicken, C.M. (1923). *Evolución de las ciencias en la República Argentina. Los estudios botánicos (VII)*. Sociedad Científica Argentina. Buenos Aires.
- Holmberg, E.L. (1893). *Clave Analítica de la Familia de las Plantas*. Imprenta, Litografía y Encuadernación de Jacobo Peuser. Buenos Aires, La Plata, Rosario.
- Hopwood, N. (2002). *Embryos in Wax: Models from the Ziegler studio*. Whipple Museum of the History of Science, Institute of the History of Medicine, University of Bern. Cambridge/Bern.
- Hopwood, N. (2005). "Visual standards and disciplinary change: Normal plates, tables and stages in embryology". *History of Science* 43 (3): 239-303. <https://doi.org/10.1177/007327530504300302>
- Hopwood, N.; Schaffer, S.; Secord, J. (2010). "Seriality and scientific objects in the nineteenth century". *History of Science* 48: 251-285. <https://doi.org/10.1177/007327531004800301>
- Instituto Nacional de Botánica (1944). *Catálogo de Colecciones 1898 - 1944*. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Médicas. Buenos Aires.
- Lawn, M. (2009). *Modelling the Future: exhibitions and the materiality of education*. Symposium Books. Oxford.
- Ludwig, D. (2013). "Mediating Objects: Scientific and Public Functions of Models in Nineteenth-Century Biology". *Hist. Phil. Life Sci.* 35 (2): 139-166. <https://www.jstor.org/stable/43862164>
- López-Ocón, L.; Aragón, S.; Pedrazuela, M. (eds) (2012). *Aulas con Memoria. Ciencia, Educación y Patrimonio en los institutos históricos de Madrid (1837-1936)*. Doce Calles-CEIMES. Madrid.
- Marchi da Silva, C. (2015). *Museus Escolares no Estado de São Paulo (1879-1942)*. [Tesis de Maestría]. Pontificia Universidade Católica de São Paulo PUC-SP. São Paulo.
- Marín Murcia, J.P. (2014). *El material científico para la enseñanza de la botánica en la Región de Murcia (1837-1939)*. [Tesis doctoral]. Universidad de Murcia. Departamento de Didáctica de las Ciencias Experimentales. Murcia.
- Mayoni, M.G. (2016). "Plantas de papier-mâché. Estudios técnicos y conservación de la colección Brendel del Colegio Nacional de Buenos". *Ge-Conservacion* 9: 6-20. DOI:<https://doi.org/10.37558/gec.v9i0.324>
- Mayoni, M.G. (2019). *Colecciones, museos y enseñanza de la historia natural en los colegios nacionales argentinos (1870-1900)*. [Tesis doctoral]. Facultad de Filosofía y Letras. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires.
- Mayoni, M.G. (2020) [en prensa] "Dispositivos para la enseñanza de la naturaleza. Tecnología y modernidad en los colegios argentinos de finales del siglo XIX". *Historia y Sociedad*, 40. Universidad Nacional de Colombia.
- Meloni, R.A.; Alcântara, W.R.R. (2019). "Materiais didático-científicos e a história do ensino de ciências naturais em São Paulo (1880-1901)", *Educação e Pesquisa* 45: 1-22. <http://dx.doi.org/10.1590/s1678-4634201945207546>
- Pegoraro, A. (2009). *Las colecciones del Museo Etnográfico de la Universidad de Buenos Aires: un episodio de la historia del americanismo en la Argentina, 1890-1927*. [Tesis de Doctorado] Facultad de Filosofía y Letras. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires.
- Pickstone, J. (2000). *Ways of knowing: a new history of science, technology and medicine*. Manchester University Press. Manchester.
- Podgorny, I. (2000). *El argentino despertar de las faunas y de las gentes prehistóricas. Coleccionistas, Museos y estudiosos en la Argentina entre 1880 y 1910*. Eudeba/Libros del Rojas. Buenos Aires.
- Podgorny, I. (2005). "La mirada que pasa: museos, educación pública y visualización de la evidencia científica". *História, Ciências, Saúde - Manquinhos*, 12 (suplemento): 231-264. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-59702005000400012>
- Podgorny, I.; Lopes, M.M. (2008). *El desierto en una vitrina. Museos e historia natural en la Argentina*. Limusa. México.
- Pyenson, L.; Sheets-Pyenson, S. (1999). *Servants of Nature. A history of Scientific Institutions, Enterprises and Sensibilities*. Harper Collins. Londres.
- Ramorino, J. (1869). *Rudimentos de Mineralogía*. Imprenta Americana. Buenos Aires.
- Rivas Mateos, M. (1929). *Botánica Farmacéutica*. Tomos 1 y 2. Librería General de Victoriano Suárez, Madrid.
- Secord, James A. (2004). "Knowledge in Transit". *Isis* 95 (4): 654-672. <https://www.jstor.org/stable/10.1086/430657>
- Scala, A.C. (1912). *Manual de manipulaciones de botánica*. Imprenta de Coni Hermanos, Buenos Aires.
- Tognetti, L. (2004). *La Academia Nacional de Ciencias: Los naturalistas, publicaciones y exploraciones*. Academia Nacional de Ciencias. Córdoba.

- Tschirch, A. (1911). «Les Problèmes modernes de la Pharmacognosie ». *Bulletin des Sciences Pharmacologiques* 8: 486-496. <https://digital.ub.uni-duesseldorf.de/vester/id/2437596> [10/9/2020]
- Van Reybrouck, D.; De Bont, R.; Rock, J. (2009). "Material rhetoric: Spreading stones and showing bones in the study of prehistory". *Science in Context* 22 (2): 195–216. <https://doi.org/10.1017/S0269889709002208>
- Wagner, M.L.; Varela, B.G.; Anconatani, L.M.; Ricco, R.A. (2017). "Fuego Sagrado" [en línea] *Revista digital En Foco*, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. <http://enfoco.ffyb.uba.ar/content/fuego-sagrado> [29/9/2020]
- Wise, M.N. (2006). "Making visible". *Isis* 97 (1): 75–82. <https://doi.org/10.1086/674782>





## Nuestra edición y traducción de las Observaciones Fitológicas sobre algunas plantas exóticas introducidas en Roma de Gaspar Juárez y Filippo Gili (1789, 1790, 1792)

José Luis Narvaja S. J.<sup>1</sup>, Miguel de Asúa<sup>2,3</sup>

1. Instituto Thomas Falkner S.J., Universidad Católica de Córdoba.
2. Universidad Nacional de San Martín, 3IA Instituto de Investigaciones e Ingeniería Ambiental.
3. Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires, Centro de Estudios Filosóficos (CONICET).

### Our edition and translation of Gaspar Juárez and Filippo Gili, Observaciones Fitológicas sobre algunas plantas exóticas introducidas en Roma (1789, 1790, 1792)



El jesuita Gaspar Juárez (1731-1804) podría ser visto como el primer botánico argentino. Debe aclararse, sin embargo, que él no se entendía como tal, ya que consideraba sus trabajos en esta área como un pasatiempo, mientras se dedicada a temas históricos y religiosos. Nacido en Santiago del Estero, se educó en Córdoba y, luego de trabajar unos años como misionero, a los 36 años sufrió el exilio debido a la expulsión de los jesuitas del Río de la Plata (1767). Como la mayoría de los expulsos, se instaló en la ciudad de Faenza y pasó luego a Roma, donde permaneció el resto de su vida, bastante larga para la época (murió a

los 73 años). Fue en Roma donde entró en contacto con el P. Filippo Gili, quien en un determinado momento estuvo a cargo de la *Specola Vaticana*, que luego sería el Observatorio y era una naturalista de cierta importancia. Juntos organizaron un Huerto Vaticano Indico, con plantas exóticas (la mayoría americanas). En conexión con esto, ambos publicaron tres tomitos con descripciones de plantas (de nuevo, la mayoría, pero no todas, americanas), a razón de diez por tomo y con ilustraciones del P. Cesare Majoli: las *Osservazioni fitologiche sopra alcune piante esotiche introdotte in Roma* (1789, 1790 y 1792) (corresponden a observaciones efectuadas en los años 1788, 1789 y 1790, respectivamente). El primer volumen fue traducido por Guillermo Furlong S.J. e incluido en su libro sobre Juárez, que contiene una biografía de éste y un estudio bibliográfico de la obra (Furlong, 1954). Lo que publicamos es una traducción de los tres volúmenes, o sea, de la obra completa (el primero fue traducido de nuevo). La traducción del italiano estuvo a cargo de José L. Narvaja S.J.; fue revisada por Miguel de Asúa, quien escribió un estudio preliminar "Gaspar Juárez S.J., el Jardín Vaticano Índico y las *Observaciones Fitológicas*", que es una adaptación de la sección correspondiente en el libro sobre ciencia en las misiones jesuíticas (Asúa, 2014). Este ensayo introductorio proporciona un panorama de las actividades científicas de Juárez, Gili y Majoli en la Roma de Pío VI; describe la organización del Huerto Americano y las redes de corresponsales que contribuían con semillas (como Gregorio Funes en Córdoba y otros jesuitas expulsos en Europa); se explica la formación botánica de Juárez y su edición del *Conspectus novae editionis Florae Peruviana et Chilensis* (1795); en fin, se ubica el proyecto de Juárez y Gili dentro de la botánica de su tiempo y de la cultura de los jardines exóticos en la Roma pre-napoleónica.

Las actividades científicas de los jesuitas constituyen el capítulo inicial de la historia de la ciencia en el Río de la Plata. En particular, aquellos que nacieron de este lado del océano, como Juárez o los astrónomos Buenaventura Suárez (santafecino) o Alonso Frías (santiagueño y también expulso) merecen más atención que las que se les suele proporcionar en algunos relatos canónicos que desplazan los orígenes muchas décadas hacia adelante.

Cada uno de los treinta capítulos consiste en un grabado de la planta, el nombre linneano, los nombres en guaraní u otros idiomas nativos (cuando eso correspondía) y una descripción, además de propiedades y usos. En esta edición se reproducen las láminas originales de Majoli. La traducción se mantiene fiel al original y no se hizo ningún intento de modernizarla, como así tampoco de identificar con nomenclatura botánica moderna las especies, dado el carácter histórico de nuestra edición.

Tampoco se intentó transcribir a un sistema moderno las referencias bibliográficas de Juárez. Cuando fue necesario, se agregaron notas del traductor.

Este volumen aparece editado por el Instituto Thomas Falkner S.J. de la Universidad Católica de Córdoba, en 2019. Se trata de una edición de tipo *print-on-demand*, efectuada a través de amazon.com (se menciona, pues es la única manera de acceder al libro).

### Referencias bibliográficas

- Asúa, M. de (2014). *Science in the Vanished Arcadia. Knowledge of Nature in the Jesuit Missions of Paraguay and Río de la Plata*. Brill, Leiden.
- Furlong, G. (1954). *Gaspar Juárez y sus "Noticias fitológicas" (1789)*. Librería del Plata, Buenos Aires.



# Dominguezia

## Índice acumulado

### Dominguezia 35(2) 2019

Evaluación del efecto insecticida de *Picrasma crenata* Engl. in Engl. & Prantl —Simaroubaceae— sobre coleópteros plaga de granos almacenados

Silvia M. Rodríguez

Calidad botánica de seis plantas andinas, condimenticias y medicinales, comercializadas en la ciudad de San Salvador de Jujuy, Argentina

Leila A. Giménez, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni

Evaluación de la genotoxicidad y toxicidad general de extractos acuosos de *Acanthospermum australe* Loefl. Kuntze (Asteraceae) por medio del test de *Allium cepa*

Carlos G. Altamirano

Diseño de una base de datos de Plantas Medicinales de Entre Ríos, República Argentina

Daniel M. Heissenberg, Gerardo N. Guerrero-Flores, Renan Lima de Araujo, Nelson Saldaña Baptista, Giovanna Barbalho Leal, Sonia Brandt, Melina A. Delgado

Evaluación de la acción insecticida de aceites esenciales en larvas de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

Lilian R. Descamps, Carolina Sánchez Chopa

### Dominguezia 36(1) 2020

Perfiles de polifenoles en *Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh. (Loranthaceae), su estudio mediante electroforesis capilar y su relación con la actividad antioxidante. Parte I: caracterización fitoquímica

Cecilia B. Dobrecky

Caracterización micrográfica del fruto de *Punica granatum* y su importancia en el control de calidad botánica

Leila A. Gimenez, Beatriz G. Varela, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni

Estudio farmacobotánico, etnofarmacológico y microográfico de drogas vegetales utilizadas para las afecciones de mayor índice de mortalidad, comercializadas en la ciudad de Posadas, Misiones Argentina. I parte

Carlos G. Altamirano, Marta E. Yajía

Presencia de *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. en muestras comerciales rotuladas como “carqueja” adquiridas en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Ignacio J. Agudelo, Beatriz G. Varela, Marcelo L. Wagner, Rafael A. Ricco

Valoración de la actividad de extractos acuosos de diferentes órganos vegetativos de *Jodina rhombifolia* (Hook. & Arn.) Reissek (Santalaceae) sobre la excreción volumétrica urinaria de ratas Wistar

Mauricio R. Teves, Graciela H. Wende