

Edición Génica: Una oportunidad para la Región

La selección de genotipos superiores - plantas o animales - siempre ha dependido de la existencia de diversidad genética. Desde la domesticación de especies, la variabilidad genética natural generada a lo largo de la evolución como producto de mutaciones, poliploidización y recombinación genética ha sido aprovechada por los programas de mejoramiento. Sin embargo, en algunos cultivos esta variabilidad se ha ido reduciendo como consecuencia inevitable de la selección de individuos con características favorables. Distintas tecnologías han posibilitado la re-introducción de variabilidad a partir de cruzamientos (intra- o inter-específicos) realizados por el hombre, la inducción de mutaciones y, más recientemente, la ingeniería genética. Estas técnicas son herramientas básicas en el mejoramiento porque contribuyen a enriquecer el sustrato sobre el que se ejerce la selección antrópica.

Hace unos 20 años la ingeniería genética abrió la posibilidad de superar las barreras a la hibridación para incorporar genes provenientes de cualquier organismo, incluso de diferentes reinos, generando organismos genéticamente modificados (OGM) también denominados transgénicos. Desafortunadamente, esta técnica no ha rendido todo su potencial. Probablemente, los principales factores que pueden explicar este hecho son: **i)** la existencia de genotipos o especies recalcitrantes para ser transformados o regenerados *in vitro*, **ii)** la aleatorización en el genoma del sitio y el número de copias de los transgenes, con efectos de posición impredecibles, **iii)** la limitada elección de los caracteres (“*traits*”) objeto de la transformación (principalmente, tolerancia a herbicidas y a

insectos), **iv)** el estricto y costoso proceso de desregulación para poder comercializar OGM¹, y **v)** una percepción pública en general negativa (e imprevista).

La Edición Génica (EG) constituye un avance significativo en las tecnologías de modificación genética con un consecuente impacto en el aumento de la variabilidad.

Posee el potencial de realizar modificaciones en la secuencia de ADN dirigidas a genes específicos para alterar su expresión (silenciarlos o sobre-expresarlos), reemplazar alelos e introducir transgenes en sitios específicos del genoma.

Se estima que esta técnica puede reducir drásticamente los tiempos del mejoramiento y puede producir una ventaja radical en los programas de mejoramiento tanto en animales como en plantas, por su menor costo y mayor accesibilidad por parte de dichos programas.

En cultivos de reproducción agámica como la papa, el banano, la yuca, la caña de azúcar o la vid, entre otros, -todos cultivos de importancia para la región-, la utilización de la EG puede modificar sustancialmente el esquema de los programas de mejoramiento, ya que permitiría realizar mejoras incrementales sobre genotipos establecidos y adaptados (élite). La realización de EG de manera que se asegure la ausencia de secuencias de ADN foráneas puede determinar que los organismos mejorados no presenten requisitos reglamentarios especiales como los OGMs para su comercialización. La ausencia de marcadores de selección plantea tanto una ventaja desde la percepción pública de los alimentos mejorados por esta técnica como una dificultad que implica un esfuerzo

¹ Este tercer factor ha contribuido a que los denominados “desarrollos biotecnológicos” hayan estado concentrados en unas pocas empresas de

presencia mundial, con escasa participación relativa de entidades de investigación pública (Universidades, INIAs).

significativo en la identificación de la descendencia "editada".

Los avances en la secuenciación de genomas de importancia agropecuaria junto con la identificación acabada de los genes, sus funciones y regulaciones se presentan como un requisito previo para la selección de las secuencias objetivo y de qué manera la EG cambiará su expresión. Además, disponer de las secuencias de genomas completos de buena calidad permite identificar eventuales cambios realizados por la maquinaria de EG en regiones no deseadas (denominadas "*off target*"). Asimismo, se revaloriza el conocimiento de las variantes alélicas de origen natural y su impacto en el fenotipo, ya que a partir de esta información se puede dirigir el reemplazo alélico en variedades y razas ya mejoradas, con el objetivo de eliminar de las poblaciones de mejoramiento alelos deletéreos y enriquecerlas en alelos deseados.

El reducido financiamiento de los programas de investigación público-privados, en particular en países no desarrollados, junto con las prácticas de protección intelectual, han contribuido a centralizar el predominio tecnológico de las grandes empresas de biotecnología agrícola, la reducción de la diversidad de productos agrícolas y, en última instancia, el aumento del precio de las semillas. Una característica distintiva de las grandes empresas de biotecnología agrícola es su capacidad de innovar para el desarrollo continuo de genotipos de alta calidad utilizando herramientas biotecnológicas. Para ello desarrollan sólidas estrategias de investigación y desarrollo que utilizan, además de herramientas de mejora genética convencional, herramientas biotecnológicas avanzadas como la selección genómica, ingeniería genética y las Nuevas Tecnologías de Mejoramiento Genético (NBTs, por sus siglas en inglés). En ese mismo sentido, se ha evidenciado en los últimos años la adquisición de empresas de mejoramiento poseedoras de germoplasma –cuyo desarrollo requirió decenas de años– por parte de empresas de biotecnología.

Esto pone en evidencia que si bien la EG es una poderosa herramienta para ser utilizada, pierde mucho de su potencialidad sin el germoplasma élite y el conocimiento del mejoramiento convencional.

Marco conceptual de la Edición Génica

La edición génica permite la mutación de regiones específicas del genoma a través de una nucleasa específica de ADN -orientada por una guía proteica o de ARN- que provoca cortes en una doble cadena. Estos cortes son reparados por la propia maquinaria celular con la posibilidad de introducir errores (deleciones o inserciones) que alteran regiones promotoras o el marco de lectura, provocando el virtual "apagado" del gen en cuestión.

Asimismo, mediante la unión de extremos homólogos es posible introducir un fragmento de ADN con la secuencia de la región codificante del gen alterada, produciendo un "recambio alélico" o un cambio en la expresión del mismo, si es en la región reguladora. De manera análoga, esta técnica permite crear sitios específicos de inserción para uno o más transgenes.

La posibilidad de generar modificaciones en la secuencia de ADN en ausencia de secuencias genéticas foráneas puede determinar que los organismos mejorados no presenten requisitos reglamentarios especiales como los OGMs para su comercialización. En este sentido, los organismos editados genéticamente deberán enfrentar un nuevo escenario regulatorio – que se prevé menos complejo, o inclusive sin regulación específica– lo que reduciría considerablemente las barreras de entrada de los productos derivados por estas técnicas.

La edición génica puede producir profundas transformaciones en la industria biotecnológica agropecuaria, dada su potencialidad, sus costos moderados y un nuevo escenario regulatorio.

En particular, se espera que el disputado escenario de la propiedad intelectual de esta técnica no sea restrictivo a la innovación por parte de pequeñas y medianas empresas y de organizaciones de I+D públicas (Universidades, INIAs), fomentando el desarrollo de empresas de base biotecnológica sustentadas por el conocimiento de los genomas y de la funcionalidad y diversidad alélica de los genes con impacto en el fenotipo.

Oportunidades y desafíos en biotecnología vegetal *via* Edición génica

La EG se ha realizado de manera experimental con éxito en una serie de importantes cultivos agrícolas, como arroz, maíz, soja, papa, cebada, sorgo y trigo, así como también en especies forestales como álamo. Esto ha permitido la modificación de diversos rasgos de interés agrícola como la resistencia a herbicidas, la tolerancia a enfermedades y sequía y la modificación de la composición química y/o nutricional de los productos de cosecha.

Al momento hay pocos ejemplos de cultivos editados genéticamente y aprobados para su comercialización, entre los que se destacan:

- Maíz con composición alterada del almidón (>97% amilopectina; <3% amilosa). La amilopectina es más soluble que la amilosa, haciendo que el almidón de este maíz sea una mejor opción para los adhesivos de papel y los espesantes de alimentos.
- Soja con bajo contenido de ácidos grasos insaturados (alto oleico y bajo

linoleico) mediante inactivación de dos genes de desaturasas (*FAD-1A*; *FAD-1B*).

- Hongos comestibles (champiñones; *Agaricus bisporus*) que se mantienen blancos al procesarse, por la inactivación de un gen de la familia de las polifenol-oxidasas (*PPO*).

Todos estos desarrollos se han aprobado para los Estados Unidos de América, y para algunos de ellos ya se han realizado consultas a las agencias reguladoras en terceros países, como por ejemplo Argentina.

La posibilidad de lograr genotipos mejorados en una sola generación conlleva un ahorro sustancial de tiempo y recursos que permitirían potenciar los programas de mejoramiento de la Región de manera sustancial.

Cabe destacar que las posibilidades de innovación se multiplican y potencian en función del entendimiento de los genomas, de la identificación de los genes y sus reguladores y de su impacto en el fenotipo. Esto plantea un escenario donde el conocimiento es la llave principal para los desarrollos innovadores y no dependientes de la propiedad intelectual de un gen, como es el caso de los OGMs tradicionales.

Oportunidades y desafíos en biotecnología animal

La EG en animales tiene un gran potencial para favorecer la producción de alimentos. Se pueden promover los alelos, genes o mutaciones deseables que se encuentran en baja frecuencia en una población mediante edición génica, aumentando la proporción de individuos que muestran el rasgo deseado, haciéndolos disponibles para la cría de animales. Además, las características genómicas asociadas con fenotipos

favorables únicos a otras razas o subespecies pueden incorporarse con precisión en el genoma de la especie de interés para promover una mejor producción y calidad de los alimentos, así como favorecer el bienestar animal.

A través de la adición de mutaciones simples pero precisas, la EG ofrece la oportunidad de generar animales que producen leche de mejor calidad nutricional –como aquella con mayor proporción de ácido linoleico conjugado y de proteínas beneficiosas para la salud humana– o con inhibición en la secreción de proteínas alergénicas como la beta-lactoglobulina. Por otro lado, también se puede favorecer la introgresión de genes o alelos favorables. Recientemente, el alelo dominante *polled* –responsable de la ausencia de cuernos, común en razas británicas como Angus– se introdujo vía EG en células provenientes de un bovino con cuernos y, después de la producción de clones de embriones, se generaron dos animales homocigotas para la ausencia de cuernos. Con la introgresión de este alelo se evita el desmoche químico o “al hierro” realizado en los primeros meses de vida en terneros de razas lecheras, contribuyendo al bienestar de los animales y al manejo del rodeo. Asimismo, el carácter homocigótico de dicho gen en los animales editados asegura que la progenie derivada del semen de los mismos conserve el carácter deseado.

Los avances en los estudios genómicos y fenotípicos pueden guiar la EG para características poligénicas complejas, como las asociadas con tolerancia al calor y resistencia a parásitos como las garrapatas. Los microorganismos ruminales también pueden ser editados para mejorar la digestibilidad o reducir la producción de gas metano asociado con el efecto invernadero. En tanto, los rasgos de rusticidad perdidos con la selección fenotípica podrían reintroducirse en el genoma de razas mejoradas y aumentar la variabilidad en la población. Otra aplicación de la EG es la generación de animales para modelo de estudios de la salud humana, o para la

producción de biofármacos. A modo de ejemplo, los cerdos muestran una gran semejanza fisiológica y metabólica con los seres humanos y pueden tener su genoma editado con mayor precisión para servir como modelo para estudios de enfermedades humanas, tales como fibrosis quística y cardiopatías.

Sin embargo, los estudios en animales requieren sistemas de producción *in vitro* de embriones y micromanipulación para promover la EG en los cigotos que generarán los animales, lo que requiere un continuo avance en las biotecnologías reproductivas. Además, la gestación y el desarrollo del animal nacido son necesarias para la evaluación de la eficiencia final del proceso de EG, lo que lleva más tiempo en comparación con los protocolos establecidos en plantas.

Análisis prospectivo y oportunidades para los INIAs de la Región

En el marco de las NBTs, especialmente la fundamentada en la aplicación de la EG, representa una oportunidad sin precedentes para el desarrollo de genotipos mejorados. En el mundo entero representa una revolución tecnológica pocas veces vista, debido no sólo a sus particulares ventajas técnicas sino a la posibilidad de introducir modificaciones genéticas con alta eficiencia e inusitada velocidad, toda vez que se tenga instalada una plataforma de capacidades, se elija adecuadamente las características que se desea mejorar y se disponga del germoplasma élite adecuado. Al mismo tiempo, varios países han considerado a la EG como una tecnología distinta a la de generación de OGMs, por lo que no requeriría más que una evaluación de los criterios de novedad, estabilidad y homogeneidad, como cualquier nuevo cultivar que quiera ser registrado y protegido.

Existe una tendencia en los organismos oficiales de algunos países de la Región en considerar a los productos de la EG como no-OGM y, en consecuencia, exenta de sus intrincadas y costosas regulaciones.

Con las restricciones propias de las evaluaciones de OGMs, actualmente sólo las grandes compañías pueden aspirar a completar las numerosas etapas de evaluación de un producto transgénico; esto no sería el caso de los nuevos genotipos desarrollados a través de la tecnología de EG.

En el seno del Núcleo de Estudio de Nuevas Tecnologías de Mejora Genética vislumbramos a las plataformas de EG como una oportunidad estratégica.

Por lo tanto, consideramos urgente que los INIAs del PROCISUR tomen la iniciativa, tanto en forma conjunta como individual en cada uno de nuestros países, de dar todo el apoyo técnico que las autoridades locales requieran para lograr la aceptación e implementación de esta tecnología en los casos en los que aún no se haya hecho. Asimismo es muy deseable que puedan establecerse los mecanismos y financiamiento necesario para lograr una adecuada colaboración horizontal en el desarrollo e implementación de la EG en toda la región, rescatando el espíritu de cooperación entre los países miembros de PROCISUR. Esto es especialmente relevante considerando que el número de especialistas es muy reducido en la mayoría de nuestros países. Por consiguiente, sería clave disponer de recursos para entrenamiento de investigadores a nivel regional. Así también, es necesario (re)crear las instancias para estimular la integración técnica en toda la cadena, desde quienes

dominan las técnicas de ingeniería molecular (EG, en este caso) hasta los (fito/zoo) mejoradores con su papel protagónico en definir los caracteres y los genotipos de mayor interés, incluyendo en estos grupos de discusión (cuando sean personas diferentes) a genetistas de cada especie, quienes aportan la información necesaria para tomar decisiones clave como la elección del o de los caracteres a ser modificados/mejorados. Al respecto, es muy importante que se elijan caracteres simples (de herencia mendeliana, mono u oligogénicos) como primeros blancos para ser mejorados, con el fin de aumentar la probabilidad de obtener resultados en plazos acotados. Esto es muy importante para impactar adecuadamente en diferentes niveles, tanto en ámbitos técnicos como políticos, y en la sociedad en general. En todo caso, es destacable que ya hay diversas iniciativas de NBTs (y, en particular, de EG) en varios países de la región, en distintos estados de desarrollo. En su mayoría se encuentran en su fase inicial, o bien son del tipo “prueba de concepto”, aunque las perspectivas son muy buenas, con varios nuevos proyectos en gestación.

Finalmente, cabe destacar que es deseable enfocarse en forma prioritaria en resolver problemas propios de la región o de cada país; por ejemplo, mejorar características de calidad de postcosecha en frutas o productos que deban viajar hasta mercados lejanos, desarrollar u optimizar sistemas de defensa de plagas y enfermedades endémicas y/o cuarentenarias, entre otros. Así también, se debería considerar a las especies nativas o “huérfanas”, aunque la decisión de qué especie abordar evidentemente debe considerar aspectos económico-productivos.

En resumen, las NBTs y, en particular las plataformas de EG, representadas actualmente por la tecnología CRISPR/Cas9, representan una gran oportunidad para resolver problemas de interés regional y local, por lo que los INIAs deben trabajar mancomunadamente para optimizar su implementación en el más breve plazo, conducente a la obtención de productos de valor estratégico.

Este documento fue originado durante la “Primera Reunión del Núcleo de Estudio de Nuevas Técnicas de Mejoramiento Genético” del PROCISUR, realizada en Montevideo entre el 25 y 26 de agosto de 2017 y redactado en versiones corregidas entre esa fecha y el 6 de septiembre del mismo año, con la participación y colaboración de los siguientes profesionales:

<i>Sergio Feingold</i>	<i>INTA, Argentina</i>
<i>Guillermo Eyherabide</i>	<i>INTA, Argentina</i>
<i>Alexandre Nepomuceno</i>	<i>Embrapa, Brasil</i>
<i>Hugo Molinari</i>	<i>Embrapa, Brasil</i>
<i>Patricio Hinrichsen</i>	<i>INIA, Chile</i>
<i>Paola Barba</i>	<i>INIA, Chile</i>
<i>Lourdes Cardozo</i>	<i>IPTA, Paraguay</i>
<i>Christian Dujack</i>	<i>IPTA, Paraguay</i>
<i>Victoria Bonnacarrere</i>	<i>INIA, Uruguay</i>
<i>Sergio Ceretta</i>	<i>INIA, Uruguay</i>