

Edición génica: una oportunidad para la región

FEINGOLD, S.E.¹; BONNECARRÈRE, V.²; NEPOMUCENO, A.³; HINRICHSEN, P.⁴; CARDOZO TELLEZ, L.⁵; MOLINARI, H.³; BARBA, P.⁴; EYHERABIDE, G.¹; CERETTA, S.²; DUJACK, C.⁵

La selección de genotipos superiores -plantas o animales- depende de la existencia de diversidad genética. 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 genético con el objetivo de generar materiales adaptados a la producción agrícola. 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 reintroducción de variabilidad a partir de cruzamientos (intra- o inter-específicos e intergénicos), 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 más de 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 transgénicos¹. 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 limitación en los caracteres (“traits”) objeto de la transformación difundidos para su uso (principalmente, tolerancia a herbicidas y a insectos), y iv) el estricto, largo y costoso proceso de desregulación para habilitar la comercialización de OGM². Sin embargo, a pesar de los estrictos requerimientos regulatorios, los transgénicos no han podido evitar una percepción pública adversa en ciertos ámbitos.

Recientemente, surgió una nueva herramienta basada en ingeniería genética, denominada edición génica (EG). La EG 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 (introduciendo alelos favorables) o introducir transgenes en sitios específicos del genoma. En los primeros dos casos, la EG no incorpora secuencias foráneas de ADN por lo que los productos desarrollados por EG son indistinguibles de los generados por mejoramiento convencional.

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

Se estima que esta técnica puede reducir drásticamente los tiempos del mejoramiento y producir una ventaja radical en la generación de animales y plantas mejoradas, debido a su menor costo y mayor accesibilidad. Además, en cultivos de reproducción agámica como la papa, el banano, la yuca, la caña de azúcar o la vid, entre otros, la utilización de la EG

¹En realidad, la terminología OGM es muy vaga, ya que otras tecnologías (no necesariamente bio-tecnologías) pueden modificar los genomas (por ejemplo, cruzamientos inter-específicos). Se prefiere el término “transgénico” que describe adecuadamente la presencia de un gen proveniente de otro organismo, que no podría haber sido obtenido sino por técnicas de ingeniería genética. Igualmente, a los efectos de este artículo, se usa indistintamente OGM y transgénico.

²Este 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).

*Programa Cooperativo para el Desarrollo Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur (PROCISUR) - Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina. Correo electrónico: feingold.sergio@inta.gov.ar

²Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay (INIA), Uruguay.

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Brasil.

⁴Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Chile.

⁵Instituto Paraguayo de Tecnología Agrícola (IPTA), Paraguay.

puede modificar sustancialmente el esquema de los programas de mejoramiento, ya que permitiría realizar mejoras incrementales sobre genotipos establecidos y adaptados (élite).

Los avances en la secuenciación de genomas de importancia agropecuaria junto con la identificación de los genes, sus funciones y regulaciones se presentan como un requisito previo para la selección de las secuencias objetivo cuyo cambio de expresión -realizado por la EG- tendrá un impacto deseado en el fenotipo. Además, disponer de las secuencias de genomas completos de buena calidad permite prevenir la eventual ocurrencia de 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.

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 (ZFN, TALEN) o de ARN (CRISPR)- 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. Alternativamente, es también factible la eliminación de toda la secuencia codificante de un gen.

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 el cambio apunta a secuencias de la región reguladora. De manera análoga, esta técnica permite crear sitios específicos de inserción para uno o más transgenes.

La maquinaria de EG produce cambios en el ADN de una célula, lo que requiere generar un organismo completo derivado de la misma. En aplicaciones en animales, esto se resuelve a través de micro-inyecciones en óvulos o en los primeros estadios embrionarios que luego son implantados. En plantas, sin embargo, es necesario poder regenerar una planta completa a partir de esa célula, una capacidad dependiente de genotipo. Asimismo, al no existir mecanismo de selección a antibióticos o herbicidas -como ocurre en el desarrollo de transgénicos- es fundamental contar con un método rápido y efectivo de identificación de las plantas regeneradas cuyo genoma ha sido editado. Estas limitaciones, refuerzan la necesidad de contar con capacidades en cultivo *in vitro* y regeneración de células animales y vegetales.

REGULACIÓN DE DESARROLLOS DERIVADOS DE LA EDICIÓN GÉNICA

La posibilidad de generar modificaciones en la secuencia de ADN en ausencia de secuencias genéticas foráneas ha

determinado, en algunos países de la región, que los organismos mejorados por EG no presenten requisitos regulatorios especiales como los OGMs para su comercialización, y, a su vez, estén sometidos a las mismas regulaciones que los obtenidos por técnicas convencionales de mejoramiento. En este sentido, la Resolución 173/15 del 18 de mayo del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Argentina establece: "Para que un cambio genético sea considerado una nueva combinación de material genético, se analizará si se ha producido una inserción en el genoma en forma estable y conjunta de UNO (1) o más genes o secuencias de ADN que forman parte de una construcción genética definida"³. Otros países como Brasil⁴ y Chile⁵ se han sumado a este concepto con sendas resoluciones. Adicionalmente, países como Uruguay, Paraguay y Colombia están avanzando en el mismo sentido. Esta armonización en la regulatoria regional se fortalece a través de la declaración de la XXXV Reunión ordinaria del Consejo Agropecuario del Sur (CAS) sobre Edición Génica⁶. Recientemente, Argentina realizó una declaración⁷ ante la OMC presentando principios que proporcionan enfoques regulatorios funcionales, basados en ciencia y consistentes con las obligaciones comerciales internacionales. Esta presentación fue acompañada por Australia, Brasil, Canadá, Colombia, Estados Unidos, Guatemala, Honduras, Jordania, Paraguay, República Dominicana, Uruguay, Vietnam, y la Secretaría de la Comunidad Económica de Estados de África Occidental⁸.

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 DE LA BIOTECNOLOGÍA VEGETAL VÍA 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

³<http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/245000-249999/246978/norma.htm>

⁴http://www.lex.com.br/legis_27603963_RESOLUCAO_NORMATIVA_N_16_DE_15_DE_JANEIRO_DE_2018.aspx

⁵ <http://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/aplicabilidad-de-resolucion-ndeg-15232001-en-material-de-propagacion-desarrollado-por-nuevas-tecnicas-de-fitomejoramiento>.

⁶<http://consejocas.org/wp-content/uploads/2018/09/XXXVI-RO-CAS-Declaración-II.-Técnicas-de-Edición-Génica.pdf>

⁷<https://docs.wto.org/dol2fe/Pages/SS/directdoc.aspx?filename=q:/G/SPS/GEN1658R2.pdf>

⁸<http://www.iica.int/es/prensa/noticias/argentina-presenta-ante-la-omc-la-declaracion-C3%B3n-internacional-sobre-aplicaciones>

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. En este último aspecto, es interesante remarcar que hay una tendencia al mejoramiento de rasgos fenotípicos en beneficio del consumidor (calidad nutricional, composición química), el procesamiento de la materia prima (calidad industrial), la sostenibilidad de los sistemas a través de una mayor eficiencia en el uso de recursos y un menor uso de agroquímicos.

Algunos ejemplos de desarrollos de EG en la región orientados al beneficio del consumidor y a la mejora de la calidad nutricional involucran el control del pardeamiento oxidativo en tubérculos de papa, manzanas, extractos de caña y vides a través de la pérdida de función de polifenoloxidasas. Otros proyectos apuntan a la disminución de compuestos anti-nutricionales en granos de soja y tubérculos de papa; en éstos últimos incrementando además el mantenimiento de la calidad durante el almacenamiento, un factor con impacto en la industria.

Desde el punto de vista de sostenibilidad ambiental, en los distintos países de la región se está trabajando en eficiencia de uso del agua y resistencia a la sequía en soja, papa, arroz, frijol, sorgo, maíz y pasturas; así como en el incremento de la resistencia genética de soja, trigo, arroz y especies forrajeras frente a enfermedades fúngicas, desarrollos que impactarán positivamente en una disminución de fungicidas.

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 el mejoramiento animal. 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 β -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 animales homocigotos para la ausencia

de cuernos. Con la introgresión de este alelo se evita el desmochado 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.

Recientemente se ha reportado la generación de resistencia al virus del síndrome respiratorio y reproductivo de los porcinos (PPRSV) a través de la edición del gen que codifica para un receptor de superficie de las células, que es necesario para que el virus desencadene la infección. Si bien estos desarrollos son aún incipientes, abren la posibilidad de identificar genes de "susceptibilidad" a enfermedades virales y bacterianas para la generación de animales genéticamente resistentes, con el consiguiente impacto en la disminución de tratamientos antimicrobianos.

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 así 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 podría editarse su genoma para servir como modelo para estudios de enfermedades humanas, tales como fibrosis quística y cardiopatías, y para la producción de órganos "humanizados" para su uso en xenotransplantes.

ANÁLISIS PROSPECTIVO Y OPORTUNIDADES PARA LA REGIÓN

La edición génica (considerada un "nueva técnica de mejoramiento" o NBT, por sus siglas en inglés) representa una oportunidad sin precedentes para el desarrollo de genotipos mejorados, tanto animales como vegetales que mejoren la productividad y la sostenibilidad de nuestros sistemas productivos, generando desarrollos de mayor calidad nutricional e industrial y con valor agregado. Esta tecnología constituye una potencial revolución tecnológica, debido no solo 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 desean mejorar y se disponga del germoplasma élite adecuado. Al mismo tiempo, como fuera mencionado, varios países de la región han considerado que los productos de la EG serían equi-

valentes a los obtenidos por mejoramiento convencional y requerirían de la misma evaluación de los criterios de novedad, estabilidad y homogeneidad, como cualquier nuevo cultivar a ser registrado y protegido, lo que facilitaría su llegada a la producción y al mercado.

Como ventaja adicional, las posibilidades de innovación se multiplican y potencian en función del entendimiento de los genomas, los genes, su regulación y finalmente 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.

En este escenario, y considerando la importancia global de la región en la producción de alimentos, se considera que los INIAs del PROCISUR junto a otras instituciones de investigación públicas, como las universidades, tienen un rol fundamental 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 y promoviendo la colaboración público-privada y la potencial creación de empresas de base biotecnológica. 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 genetistas y fito -y zoo- mejoradores con su papel protagónico en definir los caracteres y los genotipos de mayor interés que serán la base de los

proyectos de generación de variabilidad a ser utilizada en los programas de mejoramiento. Por último, y en base a las lecciones aprendidas en el pasado, es fundamental el involucramiento de los consumidores e industria como destinatarios finales de los productos derivados de la EG, cuya aceptación es un requisito básico.

Finalmente, cabe destacar que sería deseable desarrollar proyectos que resuelvan 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", y su potencial impacto en los aspectos socio-económico y productivos.

**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 16 de noviembre de 2018.*

Agradecimientos: El Núcleo de Estudio de Nuevas Técnicas de Mejoramiento Genético agradece a Cecilia Gianoni, Secretaria Ejecutiva del Procisur, por el apoyo brindado en la ejecución de este documento y a los investigadores Gabriela Massa y Nicolás Mucci por la lectura crítica del mismo.