

Aplicación de la edición génica en la agricultura para América Latina y el Caribe

Autor Línea Víctor Manuel Núñez Zarrantes
Luz Stella Barrero Meneses
Félix Eugenio Enciso Rodríguez
Jhon Jacobo Cañas Álvarez
Juan Felipe Martínez Rocha¹

2020





Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un programa de cooperación administrado por el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), pero con su propia membresía, estructura de gobernabilidad y activos. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo, FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por:

Víctor Manuel Núñez Zarantes, Luz Stella Barrero Meneses, Félix Eugenio Enciso Rodríguez
Jhon Jacobo Cañas Álvarez y Juan Felipe Martínez Rocha

Copyright © 2020 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

FONTAGRO

Banco Interamericano de Desarrollo
1300 New York Avenue, NW, Stop W0908
Washington, D.C., 20577
Correo electrónico: fontagro@iadb.org
www.fontagro.org





Contenido

1. PRESENTACIÓN.....	8
2. INTRODUCCIÓN	9
3. NUEVAS TÉCNOLOGÍAS DE MEJORAMIENTO GENÉTICO	12
4. LA EDICION DE GENES	14
5. LA EDICIÓN GÉNICA COMO NUEVA TÉCNICA PARA EL MEJORAMIENTO ANIMAL	16
6. LA EDICIÓN GÉNICA COMO NUEVA TÉCNICA PARA EL MEJORAMIENTO VEGETAL	19
7. EXPERIENCIAS EN MEJORAMIENTO, APLICACIÓN Y PROYECCIÓN DE NBTS EN GANADERÍA Y CULTIVOS EN ALGUNOS PAÍSES DE LAC.....	25
8. REGULACIÓN DE LA EDICIÓN GÉNICA	38
9. LA REGULACIÓN A NIVEL MUNDIAL FUERA DE LA REGIÓN LAC	38
10. CONCLUSIÓN PARA LA REGULACIÓN MUNDIAL	41
11. LA REGULACIÓN EN LAC.....	41
12. PROYECCIONES Y CONCLUSIONES EN REGULACIÓN PARA PAÍSES DE LAC.....	46
13. CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES	46
14. REFERENCIAS.....	48



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Algunos países con decisión sobre regulación en modificación genética de organismos vivos mediada por transformación genética y edición de genes.	40
Tabla 2. Países de LAC con decisión sobre la regulación de la modificación genética mediada por transformación genética y edición de genes.	42



LISTA DE ABREVIATURAS

- AGO4 = Argonauta RISC 4 (del inglés Argonaute RISC Component 4)
- AGROSAVIA-Colombia = Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, de Colombia
- ALS = Acetato lactato sintasa (del inglés, AcetoLactate Synthase)
- mRNA = Acido Ribonucleico mensajero (del inglés, Messenger RiboNucleic Acid)
- AFC = Agricultores de pequeña escala.
- AIR12 = Auxina inducida en cultivo de raíces (del inglés Auxin Induced in Root culture 12)
- ATAF1 = Factor transcripcional de *Arabidopsis thaliana* (del inglés transcriptional factor1 from *Arabidopsis thaliana*)
- BLUP = Mejor predicción imparcial lineal (del inglés, Best Linear Unbiased Prediction)
- BON = Blanco OrejiNegro
- CTNBio = Comisión Técnica Nacional de Bioseguridad de Brasil
- CGIAR = Grupo Consultivo para Investigación Agrícola Internacional (del inglés, Consultative Group for International Agricultural Research)
- CIAT = Centro Internacional de Agricultura Tropical
- CIBE = Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
- CRISPR-*Cas9* = Repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas (del inglés, Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) - asociadas a la proteína *Cas9*
- CTNBio = Comité Nacional de Bioseguridad
- DNA = Ácido desoxirribonucleico (del inglés, Deoxyribonucleic Acid)
- DELF1 = Represor transcripcional 1 (del inglés transcripcional repressor1)
- DGAT1 = Diacilglicerol aciltransferasa 1, (del inglés diacylglycerol O-acyltransferase1)
- EA = Extensor de amilosa (del inglés amylose-extender)
- ESPOL = Escuela Superior Politécnica del Litoral (Ecuador)
- FAO = Organización para la Alimentación y la Agricultura (del inglés, Food and Agriculture Organization (United Nations))
- FDA = Administración de Medicamentos y Alimentos, de Estados Unidos
- FONTAGRO = Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria
- GWAS = Estudio de Asociación del Genoma Completo (del inglés, Genome-Wide Association Study)



- GBSS KO = Sintasa de almidón unido a gránulos (del inglés, Granule-Bound Starch Synthase)
- KO = Bloqueo de genes o inactivación o desactivación génica (del inglés, gene knockout).
- GN1A = Número de granos 1A (del inglés Grain number 1A)
- GT = Reglamento de la tecnología del gen de Australia (inglés *Australia's Australia's gene technology regulatory scheme*).
- HDR = Reparación Directa por Homología (del inglés, Homology-Directed Repair)
- ICA = Instituto Colombiano Agropecuario
- IIBCE = Instituto de Investigaciones biológicas Clemente Estable
- IIBI = Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria
- INIA-Chile = Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, de Chile
- INIA-Uruguay = Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, de Uruguay
- INIAP-Ecuador = Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, de Ecuador
- INTA-Argentina = Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, de Argentina
- LAC = Latino América y el Caribe
- MAGA = No.271-2015 Acuerdo Gubernativo (MAGA)
- MSTN= Miostatina (el inglés Myostatin)
- NBTs = Nuevas Técnicas de Mejoramiento (del inglés, New Breeding Techniques)
- NPBTs = Nuevas técnicas de mejoramiento de plantas (del inglés New plant breeding techniques)
- PBTs = Técnicas de Precisión en mejoramiento (del inglés Plant breeding precisión techniques)
- NHEJ = Unión de Extremos No Homólogos (del inglés, Non-Homologous End Joining)
- ODS = Objetivos de Desarrollo Sostenible (
- OGM = Organismos Genéticamente Modificados (del inglés GMOs = Genetically Modified Organisms)
- OVM = Organismo Vivo Modificado
- PCR = Reacción en cadena de la polimerasa (del inglés, Polymerase Chain Reaction)
- RNA = Ácido Ribonucleico (del inglés, Ribonucleic Acid)
- RNPs= Ribonucleoproteínas (del inglés, RiboNucleoProteins)
- SCD1 = Nucleasas dirigidas por sitio (del inglés, Site-Directed-Nucleases 1)
- SDM = Mutagénesis dirigida por sitio (del inglés, Site Directed Mutagenesis)
- SNP50 = Polimorfismo de un Solo Nucleótido – chip 50 K (del inglés, Single Nucleotide Polymorphism – 50 K SNP chip)
- SDN-1 = Mutagénesis dirigidas por nucleasas 1 (del inglés Site Directed Nucleases 1)
- SWEET4 = transportador de azúcares SWEET4 (del inglés *sugar transporter SWEET4*).



- SPDT = Transportador de distribución de fosforo similar a SULTR (del inglés, SULTR-like phosphorus distribution transporter)
- SCD1 Diacilglicerol acil-CoA Aciltransferasa 1 (del inglés SCD stearyl-CoA desaturase 1)
- TALEN = Nucleasas efectoras de tipo activador de transcripción (del inglés, Transcription Activator-Like Effector Nucleases)
- TLR4 = Receptor tipo Toll 4 (del inglés The toll-like receptor-4)
- TDF1 = (del inglés defective in tapetal development and function 1)
- USDA-APHIS = Departamento de Agricultura de los Estados Unidos – Servicio de Inspección de Salud animal y de Plantas (del inglés, United States Department of Agriculture - Animal and Plant Health Inspection Service)
- ZFN = Nucleasas de dedos de zinc (del inglés, Zinc Finger Nucleases)



1. PRESENTACIÓN

La innovación en el mejoramiento genético es necesaria para enfrentar los retos sociales y ambientales relacionados con el crecimiento de la población, la sanidad e inocuidad y el cambio climático. Hasta el presente, la agricultura ha respondido a los retos que se han presentado. Sin embargo, se requiere reunir mayores esfuerzos encaminados a responder futuros desafíos en la agricultura global por la cual los mejoradores exploran el por la cual los mejoradores exploran el descubrimiento y aplicación de nuevas tecnologías para el mejoramiento genético.

Uno de los retos de los países de LAC es la aplicación de tecnologías modernas para el fortalecimiento de los programas de mejoramiento genético vegetal y animal iniciativas están enfocadas a dar respuesta a las necesidades que involucran la generación de cultivares o poblaciones con mejor adaptación a la variación y el cambio climático, o a nuevos retos de sanidad e inocuidad, manteniendo niveles de producción, rendimiento y calidad acorde con las demandas de la sociedad.

Con base en el interés y de acuerdo expresado por AGROSAVIA-Colombia, el INTA-Argentina, el INIA-Chile, el INIA-Uruguay y el INIAP-Ecuador sobre la conformación de una plataforma de edición génica regional a través de dos proyectos consensuados, uno para la Región Andina y otro para el Cono Sur. El Comité Ejecutivo de FONTAGRO aprobó “Fondos Semilla” para la realización de un taller regional organizado por AGROSAVIA en Bogotá, con el objetivo de presentar, discutir y acordar los términos finales para la formulación de los respectivos proyectos consensuados.

El propósito de la iniciativa sobre la Plataforma de Edición Génica es fortalecer y mejorar la eficiencia de los programas de mejoramiento genético de los países de LAC, a través de posibles alianzas con otras instituciones nacionales y empresas del sector privado.

La iniciativa apunta entonces, a la conformación o fortalecimiento de programas de mejoramiento genético modernos con el fin de mejorar la precisión y rapidez para la obtención de cultivares y poblaciones mejoradas en especies de plantas y animales prioritarios.



La intención de fortalecer los programas de mejoramiento genético de la región es acelerar el desarrollo, la entrega y el uso de un flujo constante de nuevas variedades y mejores animales que satisfagan las necesidades de ingresos de los productores de alimentos sanos e inocuos, la nutrición de los consumidores, respondan a las demandas del mercado y ofrezcan resistencia o tolerancia a los desafíos de la variabilidad y cambio climático.

El alcance de la iniciativa que se propone a través de una plataforma de edición genética presentada a FONTAGRO se enmarca en el logro de los avances que se proyectan, de cara al mediano y largo plazo, con la combinación de tecnologías para el mejoramiento genético, tradicionales y de punta, necesarias para enfrentar los retos actuales y futuros de la agricultura y producir alimentos nutritivos, sanos e inocuos en cantidades suficientes como prioridad para la población de ALC. Dentro de este alcance se incluye la presentación ante FONTAGRO del “Estado del arte sobre la aplicación de la edición génica en la agricultura”.

2. INTRODUCCIÓN

El cultivo de plantas, junto con la cría de animales y su mejoramiento genético, han estado asociados al desarrollo de la agricultura desde el mismo momento de la domesticación de las especies por el hombre. La domesticación de plantas como maíz, trigo, arroz, soya, leguminosas, papa y de animales como bovinos, caprinos, porcinos, aves comestibles, entre otros, ocurrió de manera independiente en diferentes regiones como Asia Oriental, Medio Oriente, África y las Américas, posiblemente hace unos 10000 – 12000 años (Harlan, 1992). Desde entonces, las especies han sido seleccionadas primero por los agricultores que fueron seleccionando los individuos más sobresalientes en cuanto a adaptación y atributos deseables visibles y luego seleccionadas y mejoradas por los mejoradores aprovechando las variaciones o mutaciones existentes o inducidas. La selección de lo mejor en cada cosecha y de cada cría, tanto de las especies vegetales como animales, estuvo asociada con cambios morfológicos que dieron paso a la domesticación de las especies, y con ello, al origen a la agricultura (Harlan, 1983).



De lo anterior se infiere que, entre las actividades agrícolas más antiguas, está el mejoramiento genético de plantas y animales. Éste, a través del desarrollo histórico de la agricultura y los avances tecnológicos de la humanidad, ha hecho un gran aporte a la producción de alimentos.

Según la FAO (2014b), la producción agrícola está íntimamente relacionada con la provisión de alimentos para los humanos y animales, que sostienen la vida de la humanidad cada día. Especies cultivadas de cereales (maíz, arroz, trigo), tubérculos (papa, yuca), frutas (tomate, pimentón), así como otros cultivos, son considerados como la mayor fuente de alimentos para el consumo humano.

En la parte animal, el gran progreso genético en varios sistemas de producción se ha logrado a través de programas estructurados de mejoramiento genético, que al igual que en la parte vegetal, integra desarrollos en varias disciplinas, con un impacto positivo remarcable en los tiempos y costos de obtención de proteína animal.

Así, el mejoramiento convencional y moderno ha suplido grandes necesidades para la población mundial con la producción de variedades, híbridos, clones y mejores animales, presentes en nuestros sistemas productivos y mercados actuales. Las bases del mejoramiento genético moderno fueron establecidas en siglo XIX por Darwin y Mendel. Luego, con el crecimiento del conocimiento en genética, patología, Fisiología, estadística entre otras disciplinas y nuevas tecnologías asociadas al mejoramiento genético en el siglo XX y XXI, los mejoradores genéticos han contribuido de manera enorme en el aumento de la producción de alimentos y a la seguridad alimentaria mundial (Borlaug, 1983; FAO, 2014b).

Sin embargo, en las últimas décadas, debido al cambio climático, la necesidad de alimentos sanos e inocuos y el aumento de la población mundial, requiere una respuesta rápida a estas problemáticas como también las asociadas a la agricultura y la seguridad alimentaria. Según las predicciones de las Naciones Unidas (2019), para el 2050 la población mundial se incrementará en un 50 %. Relacionado con esto, el crecimiento constante a nivel mundial hacía unos 8.5 billones en 2030, 9.7 billones en 2050 y 11.2 billones en 2100, estará acompañado de una mayor demanda de proteína animal, requiriendo un incremento en la producción de leche del 63% y de la producción de carne del 76%, para poder suplir dichas



demandas (Alexandratos & Bruinsma, 2012; UN, 2019).

Al igual que las futuras demandas de consumo de los mercados, el desarrollo agrícola mundial debe responder a estos retos y crear nuevas oportunidades asociadas a la agricultura y la seguridad alimentaria.

En este contexto, la FAO (2017) plantea que, para cubrir la demanda en los próximos 32 años, la agricultura debe producir un 50% más de alimentos, forraje y biocombustible de lo que se producía hace una década. Adicionalmente, para el caso de los países de LAC, la FAO (2017) considera que es posible transformar los sistemas alimentarios para garantizar la alimentación para todas las personas, de una forma más sostenible y adaptada al cambio climático. A pesar de ello el informe de la FAO (2019), subraya que los indicadores de los ODS relacionados con la alimentación y la agricultura, hay un rezago en la meta de poner fin al hambre y asegurar que todas las personas tengan acceso a alimentos inocuos, nutritivos y suficientes durante todo el año, y al mismo tiempo hay grandes retos en las metas de incrementar la productividad agrícola y los ingresos de los pequeños productores de alimentos y de aumentar sustancialmente la eficiencia en el uso del agua en todos los sectores. Alexandratos (2012) informa que parte de la población de los países en desarrollo que vive en aquellos países con baja incidencia de desnutrición (menos del 5 %) incrementaría de un 13% a un 49% en 2030 y parte de la población que vive en países con alta incidencia de desnutrición (por encima del 20%) caería drásticamente del 40% al 4%.

Ante este panorama, los mejoradores tienen la gran responsabilidad de enfocarse en atributos particularmente importantes asociados al rendimiento y calidad para la generación de cultivos y animales resilientes y con menor requerimiento de insumos químicos y recursos naturales como suelo, agua para su producción, en el contexto regional y mundial. Se necesita entonces fortalecer los programas de mejoramiento genético con la integración y uso de nuevas tecnologías desarrolladas para asegurar la sostenibilidad de la producción de alimentos y acelerarla frente a los retos que imponen la sanidad e inocuidad, las tendencias de consumo y el cambio climático asociado, por ejemplo, a la emisión de gases efecto invernadero y la deforestación. La historia muestra que el mejoramiento genético ha contribuido significativamente y continuará siendo uno de los mayores contribuidores de la



seguridad alimentaria a nivel de LAC y global; por lo que, de cara al mediano y largo plazo, la combinación de todas las técnicas de mejoramiento tradicionales y modernas, así como su innovación, serán necesarias.

3. NUEVAS TÉCNOLOGÍAS DE MEJORAMIENTO GENÉTICO

Las nuevas tecnologías de mejoramiento genético aplicadas a cultivos y ganadería están consideradas como innovaciones en los procesos de generación de genotipos mejorados (Valavanidis, 2016). Con el concepto de innovación, se describe a aquellos enfoques y prácticas que usan la ciencia y la tecnología relacionadas con los cultivos celulares, la modificación genética en laboratorio, la secuencia de genomas, el mapeo genético, la bioinformática, la biología computacional, la inteligencia artificial y el uso de tecnologías de fenotipificación de alto rendimiento y precisión con fines de selección asistida por marcadores o por genómica en esquemas de mejoramiento, entre otros.

Estas nuevas tecnologías evolucionan constantemente con el fin de mantener y realzar los procesos de mejoramiento genético para responder a las demandas actuales y futuras de los mercados y el ambiente. Mirando lo anterior con mayor amplitud, la innovación en este caso estaría dentro del contexto de la biotecnología. Aunque en consenso no hay una definición consistente de la biotecnología, se puede utilizar la que planteó el Convenio sobre la Diversidad Biológica (CBD): “cualquier aplicación tecnológica que usa sistemas biológicos, organismos vivos, o derivados, para generar o modificar productos o procesos para uso específico” (FAO, 2011). Bajo esta definición entonces, podemos incluir las diferentes técnicas de la biotecnología involucradas en los procesos de mejoramiento genético de cultivos y animales.

La integración de las técnicas biotecnológicas, a los programas de mejoramiento genético, durante las últimas décadas, muestra que el mejoramiento genético es uno solo como ente integrador de disciplinas y metodologías. Aunque, en ciertos escenarios se considera como un proceso diferente para contextualizar la diferencia entre organismos no



transgénicos y transgénicos: Al utilizar genotipos élite o mejorados para la modificación genética de manera puntual, es muy importante tener la claridad sobre la realidad de la integración necesaria de las nuevas tecnologías como parte del eje central que es el mejoramiento genético. Específicamente las NBTs y PBTs (Nuevas técnicas de mejoramiento y Técnicas de Precisión en mejoramiento respectivamente, por sus siglas en inglés) se refieren a metodologías que se implementan actualmente para desarrollos de variedades y animales mejorados de manera más precisa y rápida.

Con un mayor y mejor entendimiento en fisiología, genética, bioquímica, biología celular y biología molecular, durante el pasado siglo XX se ha contribuido con la aceleración de los procesos de mejoramiento convencional en cuanto a la obtención de variedades y animales élite, de manera complementaria en la generación de variabilidad y selección tradicional utilizada por los mejoradores genéticos (Acquaah, 2012). Los múltiples ejemplos existentes de producción, calidad y resistencia a enfermedades entre otros demuestran que, con la innovación en mejoramiento genético, se producen nuevos cultivares y animales con potencial de incremento en producción, mejor calidad nutricional con mejores y más rápidas posibilidades de respuesta a enfermedades, impacto al cambio climático a las demandas de consumidor.

En este contexto, la gran tarea es fortalecer los procesos del mejoramiento convencional como columna vertebral en la generación de nuevos cultivares y animales, para que las nuevas tecnologías complementen de manera eficiente los programas de mejoramiento, definiendo dónde y cuándo se deben aplicar para suplir deficiencias o introducir atributos nuevos en genotipos élite o poblaciones de interés.

Dentro del conjunto de las nuevas tecnologías, está la edición de genes que muestra gran eficiencia en la generación de variabilidad, que involucra procesos de reparación específica en el ADN, produciendo modificaciones genéticas deseables concebidos como equivalentes a los procesos convencionales sexuales (Chilcoat et al., 2017; Georges y Ray, 2017; Van Eck, 2017). En conclusión, el uso de todas las tecnologías disponibles actualmente es esencial para el mejoramiento genético de cara a enfrentar los grandes retos presentes a nivel mundial, puesto que, las técnicas de mejoramiento convencional y las diferentes nuevas tecnologías



son componentes esenciales de la denominada “caja de herramientas” de los mejoradores (Lusser et al., 2016).

4. LA EDICION DE GENES

La secuenciación de genomas ha acelerado los procesos del mejoramiento genético, contribuyendo a reducir el tiempo de generación de nuevos cultivares y la selección de individuos con base en su valor genético a través del descubrimiento de genes usados para SAM y estudios de selección genómica (GWAS). Sin embargo, a diferencia de la secuenciación de genomas, la mutagénesis dirigida (DSM) con precisión a sitios deseables en el genoma representa una alternativa rápida para la obtención de variedades o animales mejorados, alterando directamente la expresión de genes que controlan características de interés.

En los procesos de mejoramiento genético convencional y moderno se hace uso de la variación o mutaciones naturales e inducidas, lo cual requiere una amplia caracterización y evaluación fenotípica y genotípica que, consecuentemente conllevan a actividades laboriosas, a largo plazo y de alto costo. La edición de genes proporciona los medios para modificar el genoma de diferentes especies de una manera rápida, precisa y predecible (Kamburova).

Las diferentes técnicas de edición de genes, también conocida como ingeniería de genomas o edición genómica, se basan en la generación de deleciones, inserciones y substituciones en el genoma de los organismos (Gruts, 2019), que conllevan a la generación de proteínas truncadas o eliminación de la síntesis de las mismas. Estas, aparecen como una herramienta alternativa para la mutación sitio específica precisa y eficiente, puesto que contrario a la transformación genética convencional, la edición génica evita, en su mayoría, la modificación de regiones diferentes a los sitios objetivos (Bortesi and Fischer, 2015). Estas tecnologías fueron primero descubiertas como un mecanismo de defensa en bacterias contra fagos, y posteriormente modificada y aplicada a líneas celulares de mamíferos (Liu, 2019). En los últimos años esta tecnología ha evolucionado rápidamente para aplicación en plantas y animales, especialmente en especies de importancia comercial a nivel global Referencia (El-



Mounadi, 2020).

En el uso del quiebre de doble cadena, proteínas de tipo endonucleasas cortan en el sitio objetivo de manera precisa, desencadenando la respuesta de los mecanismos endógenos de reparación de las células. Mediante la reparación directa por homología, HDR (abreviación inglés), o reparaciones de unión de extremos no homólogos, NHEJ (abreviación en inglés), se generan inserciones e logran deleciones (knockout -KO) o inserciones (knockin -K, en inglés) o deleciones (knockout -KO, en inglés) respectivamente, causando mutaciones por cambio de marco de lectura o mutaciones que y potencialmente generarán una desactivación génica, alterando la expresión de una característica en particular (Bortesi and Fischer, 2015; Pellagatti et al., 2015). Así, La edición genética es una tecnología altamente eficiente para alterar el genoma de un organismo, permitiendo la modificación de genes endógenos y la integración de genes exógenos (Ruan et al., 2017).

Entre las herramientas para edición génica más utilizadas actualmente se encuentran las nucleasas de dedos de zinc, ZFN, las nucleasas efectoras de tipo activador de transcripción, TALEN, y las nucleasas de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas, CRISPR/*Cas9* (Doyon et al., 2008; Christian et al., 2010; Ran et al., 2013). Estas enzimas producen rompimientos sitio-específicos en la doble cadena de ADN en una localización deseada del genoma y posteriormente, el sistema de reparación celular los repara ya sea a través de procesos NHEJ o HDR. El mecanismo HDR es el menos frecuente en las células, sin embargo, al ser la reparación hecha por medio de recombinación homóloga entre un ADN plantilla donante y un locus genómico objetivo, este resulta tener una mayor precisión en la inserción del ADN donante y es, por tanto, utilizado para realizar desactivación de genes o sustitución alélica (El-Mounadi,2020).

La fácil aplicación de la técnica que involucra CRISPR/*Cas9*, ha permitido su uso para editar genéticamente animales y plantas de diferentes especies. Existen varias ventajas del uso de CRISPR/*Cas9* frente a otras técnicas de edición como ZFN y TALEN, entre las cuales se encuentran un menor costo de implementación, menor tiempo para la construcción de vectores y edición de múltiples *loci*. Así, en los últimos años, CRISPR/*Cas9* se ha convertido en un proceso rutinario en varios laboratorios del mundo, que ha causado una revolución en



la ingeniería de genomas (Doudna y Charpentier, 2014; Van Eck, 2017).

5. LA EDICIÓN GÉNICA COMO NUEVA TÉCNICA PARA EL MEJORAMIENTO ANIMAL

Actualmente con la aparición de las “nuevas técnicas de mejoramiento (NBTs por sus en inglés)” la edición de genes se perfila como una posibilidad de acelerar y hacer muchos más eficiente los procesos de mejoramiento genético en varios tipos de animales en varias características de importancia económica. La EG constituye un avance significativo en las tecnologías de modificación genética con un consecuente impacto en el aumento de la variabilidad genética. El mejoramiento genético de una población animal puede ser acelerado con el uso de la edición génica al crear nuevos alelos benéficos o introducir alelos deseables conocidos de otras razas, sin las consecuencias del arrastre por ligamiento asociado con introgresión tradicional (Tait-Burkard et al., 2018).

En características monogénicas tales como la presencia o ausencia de cuernos, se ha calculado que el tiempo en el que se alcanza el genotipo deseado dentro de una población utilizando edición génica junto con selección genómica es cuatro veces menor que cuando solo se implementa selección genómica (Bastiaansen et al., 2018). Esto genera grandes expectativas sobre la integración de procesos de edición génica dentro de programas de mejoramiento genético, no obstante, estos resultados dependen de la eficiencia de la técnica.

En ganado bovino, la edición génica ha permitido generar animales que producen leche de mejor calidad nutricional, por ejemplo, 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. Es así como varios trabajos utilizando ZFN se han realizado para producir animales editados con mutaciones en el gen de la b-lactoglobulina (Yu et al., 2011), insertar el gen de la lisozima humana (Hlyz) dentro del locus de la b-caseína para producir esta enzima en la glándula mamaria de vacas editadas (Liu et al., 2013) y a su vez producir leche con habilidad de combatir *Staphylococcus aureus* (Liu et al., 2014).



Otra de las aplicaciones de la edición génica se ha realizado con el fin de evitar el descornado físico en bovinos. Se ha estimado que el 80% de los productores de leche en Italia (Gottardo et al., 2011) y el 93% de los productores de leche en los Estados Unidos (Thompson et al., 2017) practican el descorne de rutina del ganado lechero con el fin de disminuir el riesgo de lesiones, disminuir la competencia por espacio y evitar el impacto de comportamientos agresivos. A pesar de los beneficios, el descornado del ganado lechero representa una preocupación de bienestar animal, debido al dolor causado y la posibilidad de lesiones. Recientemente, el alelo dominante “polled”, responsable de la ausencia de cuernos, se introdujo vía edición génica 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 (Carlson et al., 2016).

La edición génica también ha sido aplicada en el área de enfermedades infecciosas. Por ejemplo, el desarrollo de cerdos resistentes al virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRSV), 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 (Whitworth et al., 2015; Yang et al., 2018). Así mismo, otros trabajos implementando TALEN, han permitido insertar el gen SP110 y generar ganado bovino con menor susceptibilidad a la tuberculosis bovina (Wu et al., 2015). Otras enfermedades donde se han tenido avances en edición génica han sido en la peste porcina africana (Lillico et al., 2016) y Mannheimiosis bovina (*Mannheimia haemolytica*) (Shanthalingam et al., 2016).

El control de una enfermedad está influenciado por muchos factores, por ejemplo, la proporción de animales editados genéticamente en la población y cómo se distribuyen dentro y entre las granjas. Según la teoría epidemiológica, solo una proporción de animales editados genéticamente sería suficiente para lograr la inmunidad del rebaño, es decir, evitar que la enfermedad se propague dentro de las poblaciones locales. Modelos epidemiológicos específicos de la enfermedad pueden ayudar a definir la proporción exacta de animales editados genéticamente necesarios para cada especie y enfermedad (Anderson y May, 1991).

Otra aplicación que tiene la edición génica es el uso de animales en la producción de órganos para trasplante humano. El proceso de trasplante de un órgano de una especie a otra,



conocido como xenotrasplante, se ha convertido en un tema de investigación debido a la falta de donantes humanos adecuados (Shafran et al., 2014). Los cerdos, por ejemplo, muestran una gran semejanza fisiológica y metabólica con los seres humanos y se podría editar su genoma para servir como modelo para estudios de enfermedades humanas, tales como fibrosis quística y cardiopatías, o también, para la producción de órganos.

El gen de la miostatina (MSTN) siempre ha sido un objetivo común para la investigación sobre un mayor crecimiento y desarrollo muscular. Este gen fue identificado por primera vez en razas muy musculosas de ganado vacuno (Belga azul y Piamontés) y en la raza ovina Texel. Se descubrió que un gen poco activo para la miostatina (también conocido como factor de diferenciación del crecimiento 8, GDF8) produce un mayor crecimiento muscular. Las variaciones genéticas subyacentes son cambios en el gen de la miostatina directamente: una delección de 11 pb en el Azul Belga y un polimorfismo de un solo nucleótido en el Piamontés (Grobet et al., 1997; Kambadur et al., 1997). Curiosamente, en la raza Texel codifica una mutación reguladora en la región no traducida del gen de miostatina (UTR), creando un sitio objetivo que permite la regulación negativa del ARNm de miostatina por dos microARN (Clop et al., 2006).

La MSTN es un regulador negativo de la masa muscular, lo que genera hipertrofia e hiperplasia de las fibras musculares cuando varias mutaciones causan la pérdida de función de la proteína, lo que disminuye su efecto sobre el control de la somatotropina. La generación de poblaciones knock-out del gen MSTN que presentan el fenotipo deseado de doble músculo ha sido exitosamente obtenido en ratones, conejos (Lv, 2016), ovejas (Crispo et al., 2015) y ganado (Luo et al., 2014) generados por co-inyección de RNAm de Cas9 y un sgrRNA, tanto por transferencia nuclear de células somáticas, como por microinyección en cigotos. El fenotipo de doble músculo fue encontrado en los animales MSTN knock-out y además un fenotipo similar fue encontrado en las generaciones subsiguientes, sugiriendo que la mutación podría ser heredada de manera estable.



6. LA EDICIÓN GÉNICA COMO NUEVA TÉCNICA PARA EL MEJORAMIENTO VEGETAL

Gracias al fitomejoramiento, se han aprovechado los diferentes vehículos, que se han integrado a los procesos de generación de cultivares, representados en diferentes técnicas y metodologías. Entre estos, lo más reciente es la edición génica. En plantas, esta incluye como requerimientos principales: i) la disponibilidad de genomas secuenciados; ii) los sistemas eficientes de regeneración y transformación genética de plantas -por vías no transgénicas cuando no hay integración de ADN foráneo, o por vías transgénicas cuando hay integración, a través del uso de biolística o *Agrobacterium*; o la modificación de células somáticas en plantas sin cultivo de tejidos; iii) los procesos robustos para la caracterización de ediciones del genoma y para hacer más eficientes la reparación del ADN, por ejemplo, por recombinación homóloga. Estos tres aspectos constituyen áreas que se vienen trabajando para lograr una mayor eficacia de la tecnología (Chilcoat et al., 2017; Van Eck, 2017; Bauman, 2020).

Por otro lado, los retos del uso de la tecnología incluyen: i) el conocimiento de la función de los genes asociados con las características a mejorar (Chilcoat et al., 2017); ii) la aceptación social de productos derivados de la tecnología, particularmente cuando las variaciones son indistinguibles de la variación natural, es decir, se esperaría que en la medida que las variedades sean indistinguibles de aquellas generadas por métodos convencionales tengan más posibilidades de aceptación (Chilcoat et al., 2017; Georges y Ray 2017; Van Eck, 2017); iii) la regulación por parte de los gobiernos, donde se esperaría menor regulación y mayor facilidad para comercialización, cuando las variedades sean similares a las generadas por métodos convencionales (Chilcoat et al., 2017; Georges y Ray, 2017; Van Eck, 2017).

Mirando hacia el resto del siglo 21, Hickey et al. (2019), plantean que el fitomejoramiento nos puede ayudar a enfrentar el reto de producir alimentos para una población de 10000 millones que se espera en el 2050, sin embargo, al mismo tiempo se preguntan, “¿podemos generar mejores cultivares lo suficientemente rápido?”. Al respecto, los mismos autores plantean tecnologías como el genotipado, la selección asistida por marcadores, el fenotipado de alto rendimiento, la edición génica, la selección genómica y la



domesticación *de novo*, que podrían galvanizarse utilizando el mejoramiento acelerado para que los fitomejoradores mantengan el ritmo de acuerdo con un entorno cambiante y una población humana cada vez mayor. Refiriéndose a la edición génica, El-Mounadi et al. (2020), manifiestan que CRISPR-*Cas9*, es la más ampliamente utilizada: Como se muestra en la obtención de eventos agronómicos y de calidad entre otros en varios cultivos.

Dentro de este panorama de retos y posibilidades tecnológicas, en la abundante literatura sobre edición génica, desde el 2013, se afirma que la técnica tiene el gran potencial de aplicación en muchas áreas y que, para el caso del fitomejoramiento, no se limita a ningún atributo en particular. Sin embargo, hay muchas limitantes entre los que se encuentra rasgos controlados por múltiples genes (i.e QTLs con baja varianza), presencia de secuencias PAM (para el caso de *Cas9*, *Cas12a*, *Cas13*), redundancia, y presencia de off-targets, entre otros. Ricroch et al. (2017) describen que el mejoramiento del rendimiento, seguido por la biofertilización y tolerancia a herbicidas, es el atributo de mayor aplicación de esta tecnología, aunque recientemente, se encuentran numerosos casos de diferentes atributos que incluyen a varias especies cultivadas y no cultivadas.

Específicamente, en mejoramiento genético de cultivos, es supremamente atractivo aplicar la tecnología para cambiar características indeseables a deseables. Esto implica el silenciamiento de genes asociados a características indeseables conocidas, como susceptibilidad a enfermedades, sensibilidad a factores abióticos, deficiencia en propiedades nutricionales o presencia de compuestos como ciertos ácidos grasos. Chen et al. (2019), plantean que la aplicación de CRISPR/*Cas9* más sencilla y común es el silenciamiento de genes indeseables.

La edición de genes puede ser usada en el conocimiento de la función de los genes o alelos responsables de características de interés hasta la mejora de los cultivos y la generación de productos para la medicina, la industria y la agricultura.

Quizás una de las aplicaciones de mayor relevancia para los retos de la producción agrícola y alimenticia, es la rápida y eficiente generación de nuevas variedades similares a las obtenidas por mejoramiento convencional (Chilcoat et al., 2017). Ejemplos, como la creación de alelos nulos para eliminar la función de un gen no deseado, la introducción de mutaciones



para modificar la función o la expresión de los genes, la integración de varios genes en un sitio específico, la transferencia de alelos de una variedad a otra de la misma especie o de relativos silvestres mediante el movimiento de genes de interés de forma rápida, precisa y sin regiones no deseadas (que usualmente están ligadas a genes de interés durante el proceso de mejoramiento convencional), son algunas de las aplicaciones reales en el mejoramiento de cultivos (Chilcoat et al., 2017).

En especies cultivadas varios autores desde el 2013 describen resultados de edición génica con la tecnología CRISPR/*Cas*, como resistencia a enfermedades, calidad de aceites, calidad de grano, rendimiento, estructura de la planta y floración, entre otras: en arroz (Jiang et al., 2013; Miao et al., 2013; Xie and Yang, 2013), trigo (Wang, et al., 2014), soya (Tomas et al., 2014), sorgo (Si Nian et al., 2019), plátano (Tripathi et al., 2019), tomate (Zachary et al., 2014), entre otros.

El arroz, como la primera especie cultivada secuenciada, en la actualidad es una de las más modificadas aplicando la tecnología de edición génica, especialmente con CRISPR/*Cas9* para varios atributos de importancia agronómica. Como alimento básico a nivel mundial, especialmente en países en desarrollo, requiere de generación de cultivares de manera rápida y constante. Esto concuerda con la tendencia real de acelerar la obtención de genotipos con nuevos fenotipos con gran potencial de liberación comercial. El rendimiento en mejoramiento genético es una característica que carácter cuantitativo bajo el control de varios genes que interactúan con el ambiente. Li M R et al. (2016), obtuvo fenotipos enanos de arroz con un incremento en el número de macollas, un componente importante para rendimiento.

Varios autores han publicado casos exitosos relacionados con la resistencia a enfermedades. Wang, et al. (2014), con el locus *TaMLO*, editaron de manera simultánea tres homeoalelos para este locus generando resistencia al mildew polvoso ocasionado por *Blumeria graminis* f. sp. *Tritici*, el cual causa grandes pérdidas en trigo. En arroz, la piricularia (*Magnaporthe oryzae*) y el añublo del arroz (*Xanthomonas oryzae*) son una de las principales enfermedades del cultivo seriamente su producción (Oliva et al., 2019). Zhou et al. (2015), evaluaron dos líneas mutantes con deleciones en la región codificadora del gen *OsSWEETB*.



Estas líneas, según los autores, tuvieron fenotipos similares al genotipo control con la diferencia que mostraron un incremento de la resistencia a *X. oryzae*, en las que las lesiones se redujeron en un 90% comparadas con las plantas no editadas. En la misma especie Wang et al., (2016), identificaron líneas mutantes con resistencia mejorada a *M. oryzae* con la disminución de lesiones de alrededor del 66% más pequeñas en relación con el genotipo no editado. La presencia del virus BSV integrada al genoma, en genoma B de los plátanos (AAB), es un problema mayor porque bajo varios tipos de estrés, la expresión del virus se activa. Thipati et al. (2019), fueron exitosos aplicando la tecnología CRISPR/*Cas9* editando secuencias del eBSOLV integradas al genoma del cultivar Gonja Manjaya. Los eventos editados generaron mutaciones en los sitios esperados previniendo la expresión del virus. Los resultados indicaron una baja probabilidad de eventos potenciales no deseables. Además, las plantas editadas y los controles no modificados, derivados de la misma línea celular, mostraron fenotipos similares sin crecimiento anormal.

Un buen ejemplo asociado a la tolerancia de factores abióticos es reportado por Zeng et al. (2020), quienes obtuvieron mutantes de arroz editados con CRISPR/*Cas9*, con incremento en producción y excelente tolerancia al frío, editando simultáneamente los genes OsPIN5b (longitud de panícula), GS3 (tamaño de grano) OsMYB30 (Tolerancia a frío). Los mutantes obtenidos mostraron incremento en el tamaño de la panícula, más macollamiento y mayor tamaño de grano.

En cuanto a atributos de calidad, Haun et al. (2014), con la aplicación de la tecnología TALENs generaron líneas de soya, con la introducción de mutaciones en dos genes (FAD2-1A and FAD2-1B) responsables de la conversión del ácido oléico, grasa monoinsaturada, al ácido linoléico, grasa poliinsaturada. Los ácidos grasos en la semilla en mutaciones homocigotas cambiaron los dos genes. El ácido oléico (FAD2-1B) incrementando del 20% al 80% mientras que el ácido linoleico disminuyó de un 50% a menos del 4%. En otros atributos, aunque son pocos los estudios realizados en sorgo, algunos resultados preliminares merecen ser mencionados de acuerdo con la descripción de los resultados exitosos logrados recientemente. Si Nian et al. (2019), aplicando el Sistema CRISPR/*Cas9* combinado con la transformación genética por *A. tumefaciens* describen resultados con los genes *SbFT* y



SbGA2ox5 en los que indujeron mutaciones novedosas. En el caso del gen *SbFT* las plantas mutantes mostraron diferencias en el tiempo de floración comparadas con los controles no editados.

Tomate y papa, son los más visibles representantes de las especies solanáceas cultivadas. Estas especies son afectadas por patógenos muy importantes económicamente. Nekrasov et al. (2017) publicaron evidencias sobre la generación de una variedad de tomate que denominaron “Tomelo”, resistente a mildew polvoso (*Oidium neolycopersici*) aplicando la tecnología CRISPR/Cas9. En este estudio el grupo de investigación le apuntó al locus *SIMlo1* presente en el cromosoma 4. Las plantas mutantes para *slmlo1* fueron similares en morfología, tamaño y en producción de frutos al genotipo no editado.

Igualmente, Brooks et al. (2014), lograron la edición de tomate con el uso de CRISPR/Cas9. Apuntando a secuencias vecinas en el segundo exón del gen homólogo de tomate de *Arabidopsis* ARGONAUTE7 (SIAGO7). Las mutaciones logradas dieron como resultado plantas con hojas modificadas demostrando el cambio de fenotipo comparado con el del genotipo no editado. Con base en estos resultados, en cultivos huérfanos y promisorios, como *Physalis pruinosa* Zachary et al. 2018 y Swartwood y Van Eck (2019), lograron sistemas de regeneración con el propósito de implementar tecnologías de edición génica en estas especies. En particular Zachary et al. (2018) aplicando el sistema de CRISPR/Cas9 en *Physalis pruinosa* para mutar genes ortólogos de tomate, lograron modificar la arquitectura de la planta, producción de flores, tamaño de fruto y atributos de producción. Estos resultados, tanto de regeneración como de edición génica en *P. pruinosa*, abre las posibilidades de modificación para algunas especies cultivadas de importancia económica del género *Physalis*, como *Physalis peruviana* (uchuva) *Physalis phyladelphica*/ *Physalis ixocarpa* (Tomatillo mexicano) ante limitantes tan importante como la fusariosis y el rajado del fruto. Mención especial merecen los casos de la edición génica de champiñones y maíz tipo waxy que han recibido de USDA vía libre para comercialización (Cartas USDA-APHIS, Waltz, 2016). En el primer caso, el investigador Yinon Yan mencionado por Waltz, (2016) en la Universidad de Pensilvania, editó la variedad botón blanco de champiñón, logrando mutantes que no se oxidan en almacenamiento y con mayor vida de anaquel. Este resultado se logró silenciando



uno de los seis genes responsables de la presencia de la enzima polifenol oxidasa (PPO) que causa pardeamiento en hortalizas y frutas. En maíz, se generó posiblemente el evento que más llama la atención por su gran importancia comercial. Aplicando CRISPR/Cas9, los Investigadores de Pioneer-Dupont, editaron el gen *wax Wx1* que codifica la sintasa-almidón unido al gránulo del endospermo responsable de la producción amilosa. Este maíz editado contiene almidón compuesto de la amilopectina, polisacárido ramificado de gran importancia para la industria (Waltz, 2016). En papa la mutagénesis SDM, se ha implementado exitosamente, enfocando principalmente características relacionadas con la tolerancia a herbicidas y la calidad del tubérculo. Se han conducidos ensayos de transfecciones transitorias y estables en protoplastos y callos en papa usando TALENs, focalizado en el gen de la sintasa de aceto lactato (ALS, inglés) y el gen de la invertasa vacuolar (*VInv*, en inglés) (Butler et al., 2015; Clasen et al., 2016; Nicolía et al., 2015). Igualmente, las tecnologías CRISPR-*Cas9* han sido usadas en papa para eliminar la producción de glicoalkaloides esteroideos y hormonas *Aux/IAA* silenciando los genes *St16DOX* y *StIAA2*, respectivamente (Nakayasu et al., 2018; Wang et al., 2015). Igualmente para evitar la integración del ADN de transferencia durante los procesos de transformación se han usado ribonucleoproteínas (RNPs) usando el sistema de CRISPR-*Cas9* vía protoplastos en papa, focalizando en el gen *GBSS* que codifica para el almidón sintasa, unida al grano, para prevenir la integración de *Cas9* en el genoma de la papa (Andersson et al., 2018).

La edición de una sola base (o base editing, en inglés) también se ha logrado en papa. Por ejemplo, se han generado mutaciones puntuales específicas dirigidas a los genes *GBSS* y *ALS* mediante la edición de bases en protoplastos, acoplado la deaminasa A3A humana con una *Cas9*, aumentando la ventana de deaminación para 17 nucleótidos en comparación con los 5 nucleótidos observados en otros sistemas (Zong et al., 2018).

Sin embargo, la naturaleza compleja de las papas limita SDM para focalizar alelos en cada cromosoma homólogo de papa. Para abordar esta limitación, se ha introducido un potenciador derivado de la región no traducida 5' del mRNA de *OsMac3* (*dMac3*) en un casete CRISPR/*Cas9* para aumentar la mutagénesis de alelos específicos de cromosomas. *dMac3*



aumenta la síntesis de *Cas9*, incrementando la proporción de *GBSS KO* (desactivación de genes por sus siglas en inglés) que contienen cuatro alelos mutantes (Kusano et al., 2018).

7. EXPERIENCIAS EN MEJORAMIENTO, APLICACIÓN Y PROYECCIÓN DE NBTs EN GANADERÍA Y CULTIVOS EN ALGUNOS PAÍSES DE LAC

En la actualidad, en países de la Región existen apuestas, iniciativas o proyecciones encaminadas al fortalecimiento o consolidación de programas de mejoramiento genético cultivos y animales con la integración de NBTs. En el caso de la ganadería dos tareas elementales son requeridas para fortalecer el desarrollo de la productividad y sostenibilidad de los sistemas ganaderos: 1) generar programas de mejoramiento genético y 2) identificar alternativas que incrementen la frecuencia de alelos en genes asociados a rasgos de interés económico. La complementariedad de estas estrategias puede reducir el tiempo requerido para incrementar la productividad ganadera. Está demostrado que el seguimiento productivo y la estimación de valores genéticos para programas de selección en razas altamente especializadas, han resultado en progresos genéticos favorables (Ma et al., 2019). En múltiples escenarios, los investigadores destacan que el conocimiento requerido para aplicar una estrategia de edición génica debe partir del conocimiento del fenotipo y la composición genética de la población a intervenir (Feingold, 2017; Petersen, 2017).

Nicolás Mucci (2019) indica que el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina (INTA) desde finales de 2012, se encuentra trabajando en edición génica sobre bovinos con el objetivo final de producir leche hipoalérgica para consumo humano. Más recientemente, se comenzó a trabajar sobre la especie porcina con el propósito de obtener animales con mayor desarrollo corporal. Ambos casos, se consideran plataformas tecnológicas básicas, para el desarrollo de investigaciones tecnológicas futuras. Se espera que, en los próximos años, el perfeccionamiento de estas técnicas sobre la base de resultados concretos permita su utilización sin restricciones, para proceder en la búsqueda y logro de un equilibrio entre necesidades y oportunidades (Mucci, 2019). En Chile, el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, de Chile (INIA) tiene como misión generar y transferir



conocimientos y tecnologías estratégicas a escala global, para producir innovación y mejorar la competitividad del sector agroalimentario. La ganadería, según (Carvajal, 2019), se caracteriza por desarrollarse en una variedad de ecosistemas que van desde el desierto en el Norte Grande, y praderas extensas en la Zona Sur y Patagonia. De allí la importancia de contar con evaluaciones genéticas locales, que permitan identificar los mejores animales a utilizar como reproductores. No obstante, esta necesidad, no existen programas nacionales de evaluaciones genéticas para los principales rubros productivos, esto es, bovinos de leche y bovinos de carne. Estas producciones se desarrollan en la Macrozona Sur del país e incluye las regiones de la Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.

La disponibilidad de germoplasma superior proviene del uso de la inseminación artificial para los bovinos de leche, y el uso principalmente de reproductores en pie para los bovinos de carne. El INIA comenzó en 2013 a instalar las bases de un programa de mejoramiento para bovinos y ovinos de carne, con una estructura de núcleos genéticos dispersos, vinculando el uso de reproductores en distintos rebaños de la institución. Las razas que conforman son Angus (rojo y negro) y Hereford para los bovinos, y Suffolk Down, Border Leicester, Poll Dorset, Merino Precoz, Texel, Corriedale y Chilota (raza criolla) en ovinos.

El programa incluye la identificación única de cada individuo, el registro de datos productivos (ejemplo: peso al nacimiento, peso al destete) y evaluación genética mediante BLUP, para así identificar aquellos animales superiores y realizar la asignación de reproductores a cada rebaño, considerando parámetros de consanguinidad. En 2019, se realizó por vez primera el genotipado a gran escala de dos rebaños bovinos Angus, utilizando el panel Bovino SNP50, incluido en las evaluaciones de información genómica. En este ámbito de genética molecular, se han realizado varios trabajos utilizando marcadores moleculares de tipo SNP para diversas características relacionadas a producción de leche y carne. Por ejemplo, la distribución de los marcadores DGAT1 (Diacilglicerol aciltransferasa 1, por sus siglas en inglés) y SCD1 (Estearoil CoA Desaturasa 1 por sus siglas en inglés) en rebaños lecheros y su incidencia en producción de leche, el contenido de sólidos totales y el perfil de ácidos grasos de la leche, o el marcador TLR4 (por sus siglas en inglés) y la susceptibilidad



de bovinos lecheros a mastitis.

Otra área de interés, y donde se tienen avances es el rescate, caracterización y valorización de los recursos genéticos animales locales, principalmente ovinos. INIA en especial ha dedicado esfuerzos para caracterizar y valorizar razas ovinas criollas presentes en el sur de Chile (Oveja Chilota, Oveja Kunko), logrando inscribir oficialmente dichos biotipos como raza y obteniendo algún sello de origen (Indicación geográfica para el cordero Chilote). De esta forma se ha aportado a la sostenibilidad de dichos sistemas productivos ovinos que mayoritariamente están en manos de agricultores de pequeña escala, AFC, y/o comunidades indígenas (Carvajal, 2019). En el ámbito de las biotecnologías reproductivas, la clonación ha sido utilizada desde el año 2007 principalmente en universidades (también INIA), pero siempre a nivel de investigación y/o académico, logrando generar bovinos que han tenido una sobrevida variable. No obstante, y dada las barreras a la comercialización de putativos productos generados mediante esta técnica (animales como biofactorías), existe interés en la aplicación de la edición génica como una herramienta moderna y de mejor aceptación de parte del mercado y los consumidores. En este sentido, ya en 2018 se presentaron los primeros avances en el uso de esta biotecnología en fibroblastos bovinos, para la generación de leche con menor contenido de proteínas potencialmente alergénicas (Carvajal, 2019). En Colombia, las iniciativas de mejoramiento genético animal incluyen razas cebuínas (Martínez et al., 2018), razas lecheras como Holstein (Solarte-Portilla Zambrano-Burbano, 2012) y razas criollas (Martínez et al., 2009; Martínez-Rocha et al., 2012; Ossa et al., 2014). En estas razas se han aplicado estrategias tradicionales de selección que implican la estimación de parámetros genéticos. No obstante, en razas criollas como el BON, la ganancia genética producto de esta selección es moderada, aunque con tendencias crecientes.

En este sentido, la edición génica se presenta como una oportunidad sin precedentes para el desarrollo de genotipos mejorados que permitirán aumentar la productividad y la sostenibilidad de los sistemas productivos de la región andina, generando desarrollos de mayor calidad nutricional e industrial con valor agregado y en un menor tiempo. Los avances que ya se tienen en los estudios genómicos y fenotípicos en razas criollas pueden guiar las



experimentaciones en características muy importantes en países tropicales, como las asociadas con tolerancia al calor, rusticidad y resistencia a parásitos (Martínez et al., 2005; Úsuga-Monroy et al., 2018); igualmente, en temas relacionados con el cambio climático y gases de efecto de invernadero, para mejorar la digestibilidad y reducir la producción de gas metano.

Durante muchos años la ganadería colombiana ha afrontado graves problemas de adaptación a las condiciones ambientales presentes. En el trópico colombiano, la gran diversidad climática, permite la ocurrencia de altas temperaturas ambientales y altas humedades relativas, además de la alta prevalencia de parásitos internos y externos, baja calidad de los forrajes y deficientes condiciones de manejo (Góngora y Hernández, 2010). Sumado a lo anterior, también se da la susceptibilidad a estas condiciones ambientales que tienen las razas foráneas que presentan genotipos especializados para producir bajo otros ambientes. Estos problemas de desadaptación a las condiciones del caribe colombiano tienen consecuencias visibles como la baja eficiencia reproductiva, aumento de mortalidad y disminuciones de la producción. Aunque muchas de estas razas logran sobrevivir, los efectos el estrés calórico sumado al actual cambio climático, terminan por agravar la situación de la ganadería de la región (Tapasco et al., 2015).

De esta manera, y teniendo como base la adaptación que tienen los ganados criollos al ambiente tropical, la técnica de edición génica puede ser empleada para mejorar características de producción de estas razas, específicamente en crecimiento y desarrollo muscular. Dicho lo anterior, se planteó el proyecto para la Región Andina con el objetivo principal de implementar metodologías CRISPR/*cas9* para la edición génica del gen MSTN en la raza criolla bovina BON, que permitan mejorar la eficiencia en crecimiento, la conformación y el desarrollo muscular sin perder características deseables de adaptación y eficiencia reproductiva. La Corporación colombiana de investigación agropecuaria (AGROSAVIA) en Colombia, se enfoca en el área de genética de las razas criollas, en aspectos relacionados con la conservación de bancos de germoplasma, la multiplicación de poblaciones mediante el plan de fomento, que llevó a obtener poblaciones superiores a las 100 ganaderías y más de 6000 registros de información genealógica y productiva, además se



realizaron diferentes tipos de caracterización genómica, utilizando genotipado a gran escala, se determinó estructura poblacional, distancias genéticas, además de realizar análisis GWAS para identificar regiones del genoma, que controlan características como: crecimiento, desempeño reproductivo y adaptación. Las estrategias de selección, utilizando información genómica en el programa de mejoramiento, han permitido la selección de candidatos para procesos de edición genómica, que permite en un futuro obtener una raza con mejor desempeño productivo, pero manteniendo su capacidad de adaptación al trópico cálido colombiano.

Se incluyen también los procesos de selección genómica para la raza Cebú Brahman, donde se tiene una plataforma de información genómica con más de 4500 animales genotipados, se predicen valores genéticos para caracteres y se realiza asesoría a productores para uso de la plataforma. En la raza Simmental, se construye una plataforma de información genómica trabajo realizado directamente con la asociación de productores y enfocado a la multiplicación de animales genéticamente superiores, que pueden ser obtenidos utilizando herramientas reproductivas de última generación.

La edición génica se realizará en células bovinas de la raza BON, que se llevará a cabo mediante la evaluación de dos sistemas de edición y dos tipos de célula. Se utilizarán plásmidos con la proteína *Cas9* y el RNA guía y RNPs acoplados sintetizados *in vitro*. El DNA o las RNPs serán transfectadas en células de fibroblastos o células de médula ósea. De esta forma, se espera evaluar la eficiencia de edición, repetibilidad y efecto en sitios no blanco (del inglés, *off-target*) de cada una de las metodologías en los sistemas celulares elegidos. Las tecnologías ómicas, junto con la genética cuantitativa y la edición génica, se pueden integrar en un proceso completo de selección para acelerar el progreso genético y poder obtener poblaciones animales de alta productividad y adaptadas a las condiciones del trópico colombiano (Martínez, 2019).

En el caso de cultivos en varios países de la región existen programas de fitomejoramiento con gran trayectoria y trascendencia tangible y de reconocimiento internacional. En relación con nuevas tecnologías integradas al fitomejoramiento, hace unos 20 años, la ingeniería genética abrió la posibilidad de superar la incompatibilidad sexual de



cualquier organismo vivo, 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) una percepción pública negativa -e inesperada- ii) la existencia de genotipos o especies recalcitrantes para ser transformados o regenerados, y, iii) el estricto y costoso proceso de desregulación para poder comercializar genotipos mejorados (Feingold, 2019).

Este tercer factor ha contribuido a que los denominados “desarrollos biotecnológicos”, hayan estado concentrados en unas pocas empresas de presencia mundial, con poca participación relativa de entidades de investigación pública (Universidades, INIAs). La edición genómica o de genes constituye un avance significativo en las tecnologías de modificación genética, con su consecuente impacto en la introducción de la variabilidad; posee el potencial de realizar modificaciones en la secuencia de ADN dirigidas a genes específicos para alterar su expresión (apagarlos o sobre expresarlos), reemplazar alelos e introducir transgenes en sitios específicos en el genoma. Se estima que esta técnica puede reducir drásticamente los tiempos del mejoramiento y puede producir una modificación radical en los programas de mejoramiento, tanto en animales como en plantas de reproducción clonal como la papa, el banano, la yuca, la caña de azúcar o la vid, entre otros, todos cultivos de importancia para la región (Feingold, 2019).

La edición de genes presenta desafíos técnicos, especialmente si se requiere la expresión transitoria de la maquinaria de la edición. La ausencia de secuencias genéticas foráneas puede determinar que los organismos mejorados no presenten requisitos reglamentarios especiales como los transgénicos 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 un cuello de botella que implicará un esfuerzo significativo en la identificación de la descendencia "editada". Los avances en la secuenciación de genomas de importancia agropecuaria, la identificación acabada de los genes -sus funciones y regulaciones-, se presenta como un requisito previo para la identificación de las secuencias objetivo y de qué manera la edición cambiará su expresión



(Feingold, 2019).

Además, las secuencias de genomas completos de buena calidad permiten minimizar la posibilidad de que la maquinaria de edición génica realice cambios en regiones no deseadas ("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 genes deletéreos y enriquecerlas en alelos favorables. El INTA ha venido avanzando en varios de los aspectos mencionados. El INIA, de acuerdo con su misión, ha definido siete programas nacionales de investigación, con líneas de trabajo y especialidades en Investigación y Desarrollo, entre los que destacan los programas de Recursos Genéticos, Cultivos, Hortalizas y Frutales, que sustentan importantes proyectos de fitomejoramiento, en directo beneficio de los productores e industria alimenticia.

En más de 50 años de existencia, cuantiosos han sido los avances y contribuciones de INIA al medio agrícola, en términos de: rendimiento, calidad y resistencia a enfermedades en diversos cultivos (trigo, arroz, avena, cebada, triticale, papas, leguminosas de grano y oleaginosas); hortalizas (ajo, alcachofa, porotos, tomates, cucurbitáceas, maíz dulce); frutales (uva de mesa, cerezos, manzano, murtilla); y forrajeras (trébol rosado, bromo, alfalfa, hualputra, lotera), entre otros.

Durante los años 90, es también en INIA en donde comienza a gestar el desarrollo de la biotecnología vegetal como un programa de apoyo al mejoramiento genético. Así, nace el Programa de Biotecnología, el cual tiene como objetivo fundamental aportar con soluciones tecnológicas, al quehacer de los programas de mejoramiento ya en marcha. Al analizar los grandes problemas que enfrenta la fruticultura mundial y la gran cantidad de factores negativos que la afectan, se concluye siempre en la permanente necesidad de desarrollar nuevas variedades. Es por ello por lo que, la ingeniería genética incorporada al mejoramiento de especies frutales ha permitido la generación de nuevos cultivares transgénicos con propiedades de competitividad productiva interesantes (específicamente en el área de resistencia a patógenos). Sin embargo, el éxito comercial solo se ha alcanzado en un par de casos, debido a la percepción negativa que existe en los diferentes componentes del mercado



(reguladores y público consumidor).

A inicio de 2010, Chile se involucró con la necesidad de generar también nuevas variedades en especies frutales mayores, y como resultado de ello, se ponen en marcha diversos programas de mejoramiento y desarrollo de tecnología en el área de la fruticultura local y de las especies comercialmente más relevantes para el país. En este proceso, INIA, vinculado al desarrollo de nuevas variedades y también de tecnología, ha desarrollado sistemas de transformación genética de varias especies, incluyendo además áreas como la genómica, la embriogénesis somática y la organogénesis. La primera permite conocer genes y su función en una especie. Las otras dos permiten generar una capacidad de propagación clonal de las especies, a la vez que son la clave para que su modificación genética sea posible. Existe una nueva era de aplicación de tecnología de mejoramiento genético, en donde es posible tomar lo mejor de las técnicas ya existentes para que el resultado sean nuevas variedades que no son categorizadas y evaluadas como transgénicas. Se trata de las denominadas NBTs, en las cuales INIA está fuertemente interesado en desarrollar.

Para poder usar las NBTs, es necesario dominar las técnicas antes mencionadas. En el año 2014 se inició un proyecto cuya finalidad es implementar tecnologías de ingeniería genética que surgen en la época como nuevas alternativas a la tecnología de los denominados transgénicos. Las NBTs, concebidas como un aporte a esta área de la agricultura, vienen a sumar desarrollos tecnológicos clásicos y nuevos en el área de la agricultura, con base en nuevos hallazgos científicos. El programa en INIA, surge con el objetivo de desarrollar tecnología en el ámbito de las especies frutales leñosas, como los son las vides y *Prunus*. Dada la trayectoria de INIA, las tecnologías incluidas en su agenda contemplaron la interferencia por RNA y la edición por nucleasas. En el transcurso del trabajo, la edición génica mediada por nucleasas, inicialmente a través de TALEN y luego abordada a través de CRISPR-Cas, se desarrolló la tecnología en el país, y se aplicó a dichas especies.

Durante el desarrollo, el programa generó nueva tecnología basada en CRISPR, proponiendo el uso ex profeso de dobles guías de RNA, elementos básicos de la edición, lo que lleva a la eliminación de segmentos génicos que permiten asegurar el cese de la función de un gen. Como pruebas de concepto, se desarrollaron poblaciones de individuos de vid



Thompson Seedless editados para genes vinculados a la susceptibilidad a enfermedades. Se abordó la eliminación de funciones génicas asociadas a susceptibilidad a patógenos a través de CRISPR-*Cas9*, generando poblaciones de individuos editados de forma específica por la nucleasa. Dichos genes son el transportador de azúcares SWEET4, selectivamente secuestrado por patógenos fúngicos y bacterianos para usar la fuente de azúcares de la planta, el regulador negativo de defensa a hongos y bacterias ATAF1, el citocromo b AIR12 que participa en procesos oxidativos asociados a infecciones, y el represor transcripcional DELF1, que actúa como represor de sistemas defensivos de la planta que utilizan ácido salicílico (Prieto, 2019). En el caso de Uruguay, el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, lidera los trabajos en mejoramiento genético vegetal del país. INIA ejecuta programas de mejoramiento genético en soja, arroz, trigo, cebada, y diferentes especies cítricas, frutícolas, hortícolas, forrajeras y forestales. En lo que respecta a edición génica, INIA tiene proyectos vinculados al mejoramiento en tomate, mandarina y soja. Soja es el principal cultivo extensivo de Uruguay, produciendo principalmente especies transgénicas resistentes a glifosato.

Últimamente, se ha comenzado a incursionar en el mercado de soja no transgénica, con calidad nutricional mejorada. Por esta razón el programa de mejoramiento de INIA está dividido en dos subprogramas, soja transgénica y soja no transgénica. Este programa forma parte de la Red Nacional de Biotecnología Agrícola, constituida por las principales instituciones públicas de investigación INIA, Universidad de la República y el IIBCE (Instituto de Investigaciones biológicas Clemente Estable) y 5 empresas del sector privado.

En el marco de esta red se han adquirido o mejorado las capacidades de generación de transgénicos y de edición génica en soja. Los caracteres principales que se buscan mejorar con estas metodologías, esta vinculados a la tolerancia a sequía y a la mejora de la calidad nutricional del grano. Se ha puesto especial énfasis en la edición génica libre de ADN y en la búsqueda de sistemas de transformación génica más eficientes (Bonnecarrere, 2019). En Colombia, la Corporación colombiana de investigación agropecuaria (AGROSAVIA), ha contribuido al desarrollo de programas de mejoramiento genético en diferentes especies de cultivo, a partir de lo cual ha generado variedades adaptadas a nichos productivos del país.



Dentro de estas se destacan cultivares liberados de especies de cultivos transitorios (maíz, algodón), perennes (palma de aceite, cacao) frutales (uchuva, marañón, guayaba), raíces y tubérculos (papa, arracacha, yuca), leguminosas (frijol, soya) y hortalizas (berenjena, ajo) entre otras (Núñez y Barrero, 2019).

En biotecnología relacionada con cultivo *in vitro* y transformación genética el país cuenta con varios laboratorios en universidades y en empresas del sector privado. La tecnología con mayor despliegue es la micropropagación en frutales, algunas hortalizas, plátano, banano y flores. En transformación genética existen equipos de investigación en el CIAT, Universidad Nacional, Universidad de Antioquia. AGROSAVIA cuenta con laboratorios de cultivo *in vitro* con muy buenas capacidades para investigación en producción de plantas en mora, papa, piña, flores, uchuva, plátano y fique. En transformación genética, se cuenta con protocolos y avances en papa, algodón, uchuva y microorganismos.

En genómica y transcriptómica, igualmente existen capacidades en varias universidades y en centros privados de investigación. AGROSAVIA tiene muy buenos avances en GWAS en uchuva, cacao, papa y microorganismos en los que se ha aplicado marcadores moleculares tipo microsatélites y más recientemente SNPs con apoyo de la bioinformática y biología computacional. Adicionalmente a iniciado en la incursión del uso de plataformas de fenotipificación como apoyo a los recursos genéticos y el fitomejoramiento. Para ello, ha contado con laboratorios bien equipados, capacidades de invernadero y campo, y recurso humano con alto nivel de experticia.

En edición génica, recientemente, AGROSAVIA ha iniciado, a través de colaboraciones internacionales con la Universidad de Cornell, la Universidad de Minnesota y el USDA-ARS, con tecnologías que involucran el sistema CRISPR-*Cas9*. Se está trabajando la especie arroz, como modelo para el mejoramiento de la tolerancia a estreses abióticos, en cultivares adaptados a las condiciones de suelos ácidos y mejorados de la Altillanura de los Llanos Orientales de Colombia. El análisis de variantes permitió identificar dos genes candidatos para edición en las variedades colombianas, uno de los cuales, el SPDT, involucrado en eficiencia de utilización de fósforo y calidad del grano del arroz, es más adecuado por aspectos técnicos y regulatorios



Se estudió el fenotipo asociado a *SPDT* y se generó una metodología en estados tempranos del desarrollo vegetativo bajo condiciones hidropónicas en cámaras de crecimiento, utilizando los cultivares colombianos y líneas de referencia del cultivar Nipponbare (que contienen alelos silvestres y mutantes *Tos17 knock-out* de *SPDT*). Adicionalmente, se validó una metodología para el estudio de la expresión del gen *SPDT* en estados tempranos del desarrollo vegetativo bajo condiciones hidropónicas. Los resultados indican que los cultivares colombianos presentan un genotipo (con base en análisis de secuencia de la región codificante del gen), un fenotipo (medido como concentración de fósforo en diferentes órganos) y una expresión del gen (medida por PCR cuantitativa), similares al cultivar de referencia Nipponbare que contiene el alelo silvestre (no deseable). Así, el haplotipo de *SPDT* en las variedades colombianas es adecuado para proyectar una delección de este o estrategia de edición libre de ADN mediante el uso del sistema CRISPR/*cas9*, como prueba de concepto de obtención del fenotipo deseado. Las metodologías desarrolladas serán utilizadas para evaluaciones del fenotipo en las líneas editadas que se generen (Barrero, 2019).

Recientemente, AGROSAVIA tiene interés de editar genes relacionados con la producción de acrilamida en papa como parte del programa de mejoramiento.

Por su parte, el Centro Internacional de Agricultura (CIAT del CGIAR) localizado en Colombia, en la Plataforma de Mejoramiento Avanzado de la Alianza Bioversity Internacional - CIAT, se ha enfocado en el uso de CRISPR/*Cas9* para cuatro cultivos: yuca, arroz, cacao y frijón; en arroz se ha realizado la validación de los genes *AGO4*, *TDF1* y *EA*, para mejoramiento, por su participación en resistencia a enfermedades, esterilidad masculina y femenina, respectivamente. De igual manera, se obtuvieron líneas editadas para el gen *GBSSI*, las cuales presentaron granos con mayor contenido de amilopectina (tipo waxy), dichas líneas pueden ser consideradas variedades de interés para la industria de salsas y aderezos, así como para arroz tipo Sushi.

Así mismo, se obtuvieron líneas editadas para el gen *GN1A*, con una producción de 25% más de granos comparados con el control no editado; dicho gen es un regulador negativo de las hormonas de crecimiento y diferenciación como las citoquininas, que al ser



inactivado produce plantas con mayor número de panículas efectivas y mayor número de granos por panículas, característica típica de las variedades Indicas. En colaboración con otras instituciones, CIAT también ha caracterizado líneas editadas de arroz resistentes a *Xanthomonas oryzae*, agente causal del añublo bacteriano, las cuales mostraron resistencia a diferentes cepas de *Xanthomonas*, que hoy se encuentran en campos confinados del CIAT para evaluación agronómica y su posible uso en la introgresión de dicha resistencia a variedades latinoamericanas.

Estudios previos en el laboratorio han demostrado que el uso de CRISPR/*Cas9*, funciona de una manera reproducible y confiable en yuca. En dicho cultivo, la prueba concepto se realizó sobre callo embriogénico friable (CEF) generados a partir de un evento transgénico de yuca GUSPlus™ positiva. Este explante fue transformado con un vector binario CRISPR, diseñado para interrumpir la expresión del gen GusPlus™. Se tienen en el campo más de 100 líneas de yuca editadas en el gen GBSSI para producir almidón tipo waxy. El uso de CRISPR/*Cas9* se ve limitado por los procesos de transformación genética, por esta razón, paralelo a los trabajos realizados en edición para arroz y yuca, también se están desarrollando protocolos de transformación y edición para cacao y frijol (Valdés, Tohme y Chavarriaga, 2019). En el Ecuador, el mejoramiento genético vegetal ha sido en mayor medida una responsabilidad del, el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Aunque existen resultados en el sector académico e instituciones privadas relacionadas con el área agrícola, es el INIAP el que ha marcado por más de 60 años el avance que percibe hoy el país, en materia de desarrollo y entrega de materiales mejorados al agricultor ecuatoriano. La cifra supera los 274 materiales, entre híbridos, clones y variedades en diferentes rubros como: arroz, banano, plátano, cacao, papa, café, palma africana, caucho, cereales, forestales, frutales, entre otros.

El método de mejora más utilizado ha sido el convencional, aunque en los últimos 15 años, la incorporación de herramientas biotecnológicas ha permitido caracterizar germoplasma cultivado y silvestre, generando información valiosa para los proyectos de mejoramiento genético y se han desarrollado protocolos de regeneración de plantas *in vitro* vía organogénesis, embriogénesis somática y cultivo de anteras en diferentes cultivos. Sin



embargo, aún resta implementar técnicas modernas de ingeniería genética que complementen estos estudios e impulsen el mejoramiento genético asistido por biotecnología.

El limitado avance en tema de ingeniería genética se debe a que el marco regulatorio sobre los productos (transgénicos) es complejo debido a las leyes ecuatorianas. La constitución de la República, en su artículo 401 declara al Ecuador un país libre de cultivos y semillas transgénicas, permitiendo la investigación “excepcionalmente, y sólo en caso de interés nacional”, por lo que legalmente no existen cultivos transgénicos en el campo. Sin embargo, el reglamento al código orgánico del ambiente del Ecuador declara que se consideran “excepciones a organismos provenientes de mejoramiento genético que no posean ADN recombinante o foráneo en el genoma resultante”. De esta forma la edición de genes abre una nueva oportunidad para la generación de cultivos no transgénicos, usando las NBTs, cuya posibilidad de uso en el campo es aún mayor que los organismos transgénicos.

La tecnología de edición libre de ADN que involucra el uso de la RNP, por ejemplo, no implica la introducción de un gen foráneo para el mejoramiento de las especies, por lo que los productos obtenidos (organismos editados), no deberían considerarse de la misma manera que un organismo transgénico, lo que permitiría impulsar de manera rápida los programas de mejora genética sin incumplir con el marco regulatorio establecido.

Para lograr este objetivo el INIAP debe asociarse con instituciones cuyo equipo de investigación posean conocimientos y experiencia en el uso de técnicas de ingeniería genética y biología molecular. En este sentido, es estratégica la alianza con el CIBE, perteneciente a ESPOL, en Ecuador, que cuenta con la fortaleza de tener especialistas con experiencia en cultivo de tejidos, ingeniería genética y análisis de tolerancia a estrés en arroz, banano y otras especies modelos, contando con las bases para la implementación de la plataforma de edición génica en estos cultivos de importancia para el país y la región.

Otra alianza importante se tendría con AGROSAVIA y la Universidad de Cornell en USA, siendo esta último como oferente de la tecnología CRISPR/*Cas9* y la tecnología RNP (Quiala y Sánchez, 2019).



8. REGULACIÓN DE LA EDICIÓN GÉNICA

Como ya se ha descrito en el documento, la edición génica, mediada principalmente por el sistema CRISPR/*Cas* es una nueva NBT con mayores avances, desafíos y aplicaciones que permiten la introducción de cambios en los genomas de forma precisa y rápida.

Varios autores (Nekrasov et al., 2017; Zeng et al., 2020; Thipati et al., 2019), entre otros, indican que los eventos mutantes obtenidos resultan similares a los controles no editados. Con base en estas afirmaciones sustentadas por los resultados hasta ahora obtenidos, las posibilidades de considerar la modificación genética por edición génica, similar a los eventos convencionales son amplias.

También, la no presencia o identificación de eventos no deseables, por segregación o por análisis molecular, con la consecuente eliminación de estos, fortalece la tendencia de calificar los nuevos cultivares, equivalentes a los obtenidos por los métodos de mejoramiento convencional. Los casos más representativos son los champiñones tipo botón y el cultivar de maíz *waxy*; los cuales, de acuerdo con los conceptos emitidos por USDA-APHIS en Estados Unidos, no requieren regulación en ese país. Otros países como China, Corea, Las Filipinas, Malasia, Sur África, Rusia, Tailandia regulan tanto a los organismos transgénicos como a los organismos editados (Tabla 1).

9. LA REGULACIÓN A NIVEL MUNDIAL FUERA DE LA REGIÓN LAC

En la actualidad existen dos situaciones sobre los marcos regulatorios para la edición de genomas. Algunos países consideran la regulación del proceso, mientras que otros regulan las características del producto final derivado (Eckerstorfer et al., 2019; Vu et al., 2019). En otros casos se regula o no se regula, se aprueba o no se aprueba la tecnología como un todo. En la tabla 1 se indican varios países relacionados con la regulación de organismos modificados.

La realidad es que en el mundo y en la LAC la edición de genomas o genes mediada por



CRISPR/*Cas* o nuevas endonucleasas, está siendo adoptada rápidamente con resultados prácticos importantes y con numerosos proyectos en desarrollo en cultivos y animales de importancia productiva (Feingold, 2018).

La regulación sobre los organismos editados la han discutido varios países, los cuales difieren en cuanto al enfoque de cada país (Tsuda, et al., 2019). El esquema regulador de la tecnología genética en Australia sigue enfocado en la regulación proporcional al riesgo y aún está respondiendo a preguntas regulatorias relacionadas con el advenimiento de las técnicas de edición de genomas a través de revisiones de Reglamento GT y el Esquema GT más amplio, que incluye La Ley GT (Thygesen, 2019). Canadá se mantiene bajo el mismo compromiso de las normas establecidas en su marco regulatorio nacional para plantas con rasgos novedosos que se estableció hace más de dos décadas. Las políticas de este país establecen que cualquier tecnología de edición génica que genere un producto novedoso, está sujeto a supervisión reglamentaria adicional para alergenicidad, toxicidad e impactos en organismos no objetivo (Smyth, 2017). Bajo este marco, dos productos, manzanas sin pardeamiento y papas sin manchas oscuras, obtenidos mediante edición génica, han sido aprobados después de un proceso largo de evaluación, concluyendo que la modificación en manzanas y papas no tienen un mayor riesgo para la salud humana que las manzanas y papas ya disponibles en mercado canadiense (Waltz, 2016b). En Estados Unidos, en marzo 28 de 2018, el secretario de agricultura de los Estados Unidos, Sonny Perdue, fijó la posición del USDA: “USDA no regula o no tiene planes para regular plantas que de lo contrario podrían haberse desarrollado a través de técnicas de mejoramiento tradicionales o desarrollado usando plagas de plantas”. India, regula todas las tecnologías de edición génica como CRISPR-*Cas9* y otras dentro de su marco regulatorio actual (Friedrichs et al., 2019). En febrero 2019, el gobierno de Japón definió que los productos derivados por modificación tipo SDN-1- mutación dirigida sin uso de secuencia de ADN como molde, puesto que no representan “organismos vivos modificados” de acuerdo con el Cartagena Act. de Japón. Por lo tanto, son considerados como similares a los generados por mejoramiento convencional (Tsuda et al., 2019). Nueva Zelanda, a través de un proceso de regulación muy riguroso, actualmente establece que todos los organismos modificados por edición génica son considerados como organismos vivos



modificados. Esto después de que la autoridad de protección ambiental de Nueva Zelanda en 2014 dictaminara que las plantas producidas vía edición génica no serían reguladas como OVMs. Decisión que fue revocada por la alta corte (Fritsche et al., 2018). La Unión Europea a diferencia de Estados Unidos y de los países de LAC, nuevamente se encuentra en una posición contraria a la modificación genética mediada por edición génica en organismos vivos. El Tribunal de Justicia sentenció en el 2018 “que estos organismos son modificados genéticamente y que se les debía aplicar las mismas restricciones legales vigentes” (SENTENCIA DEL TRIBUNAL DE JUSTICIA - Gran Sala - de 25 de julio de 2018). Se entiende entonces que, el Tribunal Supremo de Justicia de Europa considera que los productos de la edición génica deben estar bajo el mismo paraguas en el que están los organismos transgénicos. Como respuesta al Tribunal Supremo, la comunidad científica de Europa expresó una declaración abierta al Parlamento y a la Comisión europea para que se revise la decisión.

Tabla 1. Algunos países con decisión sobre regulación en modificación genética de organismos vivos mediada por transformación genética y edición de genes.

País	Transformación genética	Edición genética
Australia	Regulado	No regulado
Canadá	Regulado	Regulado
China	Regulado	Regulado
Corea	Regulado	Regulado
Estados Unidos	Regulado	Regulado
India	Regulado	Regulado
Japón	Regulado	No regulado
Las Filipinas	Regulado	No regulado
Malasia	Regulado	Regulado
Nueva Zelanda	Regulado	Regulado
Regulado	regulado	Regulado
Sur África	Regulado	Regulado
Tailandia	Regulado	Regulado
Unión Europea	Regulado/Oposición	Regulado/Oposición



10. CONCLUSIÓN PARA LA REGULACIÓN MUNDIAL

Con los avances y evidencias en la identificación de eventos editados en varios cultivos, por segregación nula y análisis molecular, las posibilidades de regulación diferente a los organismos transgénicos son altas. Algunos países diferentes a los de LAC ya han formulado o están en discutiendo sus marcos regulatorios para organismos modificados por edición génica lo que genera un gran base de experiencia y conocimiento para otros países. Es muy importante que haya acuerdos y armonía entre los países en cuanto a regular el proceso o regular las características del producto final derivado.

Por otro lado, con base en las lecciones aprendidas de la controversia sobre los cultivos transgénicos, la academia y la comunidad científica debe llevar la información directa a la sociedad sobre qué es, como funciona y como se genera la edición génica. Esto evitaría la desinformación y la mala interpretación y concepción de los resultados de la tecnología y permitiría a la tecnología, hacer parte de los procesos de producción semillas de manera más alcanzable, eficiente, en menos tiempo y con menos regulación como también la generación de productos que benefician al consumidor.

11. LA REGULACIÓN EN LAC

Con el advenimiento de los organismos transgénicos desde hace dos décadas, en LAC se tiene experiencias en el establecimiento de normas regulatorias en modificación genética por ADN recombinante. Recientemente, con la aplicación de la edición de genomas en diferentes organismos, se han abierto nuevas posibilidades de modificación genética utilizando técnicas biotecnológicas más simples y precisas en procesos de mejoramiento genético de cultivos y ganadería.

En LAC la tecnología de edición de genes ha sido acogida y está siendo adoptada para la producción de nuevos productos genéticos (Gatica-Arias, 2020). Aunque, de acuerdo con



los resultados de varias investigaciones en el mundo, los investigadores consideran que los eventos genéticos obtenidos son similares a los convencionales, los países de LAC también están estableciendo marcos regulatorios. Se espera que con esta tecnología haya mayor claridad y entendimiento del público en general en LAC, con base en los beneficios a los consumidores y al ambiente. Algunos ejemplos sobresalientes y recientes en cuanto al estado de la regulación se describen en la Tabla 2.

Tabla 2. Países de LAC con decisión sobre la regulación de la modificación genética mediada por transformación genética y edición de genes.

País	Transformación genética	Edición genética
Argentina	Regulado	Caso por caso/Mayormente no regulado
Bélice	Moratoria	Sin iniciativa
Brasil	Regulado	Caso por caso/Mayormente no regulado
Chile	Regulado	Caso por caso/Mayormente no regulado
Colombia	Regulado	Regulado
Costa Rica	Discusión sobre percepción	Discusión sobre percepción
Guatemala	Sin regulación específica	No hay iniciativa conocida
Honduras	Regulado	Acuerdo específico
México	Regulado	Regulado
Perú	Moratoria por 10 años	Sin iniciativa para investigación
Trinidad y Tobago	No regulación específica	Sin iniciativa
Uruguay	No regulación específica	Regulación bajo discusión con algunos proyectos con Crispr-Cas9.

Argentina, según Lema (2019), ha sido líder en la regulación y adopción de cultivos transgénicos y como consecuencia en el caso de la regulación de la edición génica aplicada a la agricultura, se implementó un criterio simple y sólido. La Resolución 173/15[1] del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca 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 o más genes o secuencias de ADN



que forman parte de una construcción genética definida”. Argentina es uno de los pocos países que muestra avances empleando la metodología de CRISPR/*Cas9* en bovinos (Bevacqua et al. 2016; Bogliotti et al. 2014). Recientemente, las normas de regulación fueron extendidas a animales editados (Lema, 2018). En Belice, el Comité Nacional de Bioseguridad, estableció una moratoria que previene la liberación comercial de organismos modificados para cultivos o mejoramiento. Sin embargo, se permite para investigación. En cuanto a NBTs no hay iniciativas (Gatica-Arias, 2020). Brasil, adoptó en el 2005, la actual ley de bioseguridad que le ordena a la Comisión Técnica Nacional en Bioseguridad (CTNBio) evaluar cómo las nuevas tecnologías podrían afectar la bioseguridad para el medio ambiente y salud humana / animal en Brasil y luego, si es necesario, proponer legislación sobre estas nuevas tecnologías (CTNBio, 2005). La resolución normativa no. 16 (RN16), bajo la Ley de Bioseguridad de Brasil, fue publicada en enero 15 del 2018 y aprobada por unanimidad por los 27 miembros del CTNBio (CTNBio, 2018). La norma evalúa de acuerdo con un sistema de caso por caso si el producto generado de NBTs es considerado organismo convencional o transgénico.

Brasil editó por CRISPR/*Cas9* una cepa de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) de la cual se transfirieron mutaciones presentes en 4 genes a la cepa de *S. cerevisiae* de interés en la que las mutaciones permanecieron como producto final. Esta cepa editada se desarrolló para mejorar la producción de alcohol a partir de caña de azúcar. El producto final se consideró como una levadura convencional, puesto que estas mismas mutaciones se pueden lograr por medios convencionales. Una segunda cepa de levadura y un bovino sin cuernos ha sido regulada como un organismo convencional. Un genotipo de maíz tipo waxy será considerado para regulación. Chile firmó la resolución normativa en el 2017 que regula los productos génicos editados con base en caso por caso y los exime de regulación cuando no hay inserción de transgenes (SAG 2017). Uruguay está discutiendo las posibilidades de establecer un marco regulatorio para la edición de genes.

Colombia a través de Instituto Colombiano Agropecuario, adscrito al Ministerio de Agricultura y desarrollo rural, cuenta con un marco regulatorio nacional para organismos transgénicos desde 2003, definido por la Ley 740 de 2002, por la cual se aprueba el Protocolo



de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica (ICA, 2000). En el país la regulación de los OVM, se rige bajo el decreto 4525 de 2005, el cual dicta el marco regulatorio en el movimiento transfronterizo, el tránsito, la manipulación y la utilización de los OVM que puedan tener efectos adversos para el medio ambiente y la diversidad biológica (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2005). Recientemente el ICA hizo oficial la resolución no. 00029299 (https://diario-oficial.vlex.com.co/vid/resolucion-n-mero-736329965?_ga=2.121199179.279196541.1534802394-753836802.1534802394).

Esta resolución establece el procedimiento que debe aplicarse a los cultivos obtenidos mediante el uso de la innovación de mejora genética técnicas a través de la biotecnología moderna donde el producto final no contiene ningún material genético extraño, para determinar si es un OVM o no y, en consecuencia, decidir si se aplicarán o no las reglamentaciones sobre OVMs. Por lo tanto, las ediciones libres de ADN, es decir aquellas que generan alelos nulos a través de deleciones o *knock-outs* no son reguladas como OVM por parte del gobierno siempre y cuando se demuestre que el producto final no tiene eventos transgénicos en su genoma (ICA, 2018). Costa Rica aún no ha definido un marco regulatorio, solamente ha discutido la percepción pública sobre el desarrollo de cultivos por CRISPR/*Cas9* (Gatica, 2019). Sin embargo, se adelanta investigación sobre el análisis de la posible alteración de la enzima trehalasa relacionada con tolerancia a salinidad en arroz en Costa Rica mediante CRISPR/*Cas9* (Barrantes, 2017). Ecuador, cuenta con programas de mejoramiento genético y biotecnología con resultados muy importantes. Actualmente, el gobierno ha declarado de manera oficial país libre de transgénicos (Intriago, 2015). En este sentido, el ministerio de ambiente está trabajando en un marco nacional de bioseguridad que tiene entre otros objetivos, el desarrollo científico biotecnológico en el país, y la puesta en marcha de un “sistema para la toma de decisiones y el control de los Organismos Genéticamente Modificados” (Ministerio de Ambiente, 2014). El Ministerio del Ambiente menciona que Ecuador es signatario del Protocolo de Cartagena. Sin embargo, el propio protocolo sostiene que ninguna de sus disposiciones podrá interpretarse como una restricción al derecho que tienen los países miembros de adoptar medidas más estrictas para



proteger la biodiversidad (Art. 2.4).

Sin embargo, en cuanto a la investigación en edición génica, el INIA y ESPOL, proyectan iniciar investigación en edición génica para cultivos. Por lo tanto, existe un gran interés de iniciar conversaciones sobre aspectos de regulación (Qiala y Mendozaa, 2019). Es posible que con la experiencia en regulación de otros países de la región y a nivel mundial, y considerando que los organismos modificados por edición génica pueden ser similares a los convencionales, se facilite la discusión para el establecimiento de un marco regulatorio en el Ecuador. Guatemala posee un Comité Nacional de Bioseguridad, CTNBio, pero no regula específicamente a los organismos modificados GMOs derivados de biotecnología ni de NPBTs. No hay iniciativas o aplicación de NPBTs con fines comerciales. Sin embargo, firmó una resolución bilateral con Honduras No. 60-2019, en la que en el artículo 4.6 definen varias técnicas de modificación genética. El acuerdo 271-MAGA da los procedimientos para distinguir entre un producto de ingeniería genética y un producto editado (Gatica-Arias, 2020). Honduras a través de su CTNBio, regula los GMOs como productos que resulten la biotecnología moderna (Acuerdo No. 1570-98) y de un acuerdo para la edición genómica (C.D.-008-2019).

El sistema está establecido con base en el producto final, comparado con mejoramiento convencional (Gatica-Arias, 2020). Paraguay, ha estado discutiendo sobre si regular o no regular los productos derivados de las NPBTs (Gatica-Arias, 2020). Perú, tiene establecida una moratoria por 10 años bajo la ley No. 29811, que previene la entrada y producción en el territorio nacional de GMOs. No hay iniciativa de investigación para NPBTs (Gatica-Arias, 2020). República dominicana, según el IIBI (2017), cuenta con un Comité Nacional de Bioseguridad que regula la introducción, investigación, desarrollo, tránsito, almacenamiento, producción, mercadeo, uso y liberación al ambiente, al igual que eliminación de desechos derivados de OGMs. Aún no se conoce sobre iniciativas en NBTs (Mayol y Ahranjian, 2017). Trinidad y Tobago, de acuerdo con el Ministerio de Planeación, no regula de manera específica a los NPBTs y no existen iniciativas en estas nuevas tecnologías (Gatica-Arias, 2020). En Uruguay, aunque que no hay una regulación para NPBTs, el INIA proyecta establecer e implementar investigación en CRISPR/*Cas9* para mejoramiento en tomate,



mandarina y soya a través de proyectos vinculados a esta tecnología (Bonnecarrere, 2019).

12. PROYECCIONES Y CONCLUSIONES EN REGULACIÓN PARA PAÍSES DE LAC

Con el liderazgo de países como Argentina, Colombia y los hechos reales de no regulación de productos para liberación comercial en Estados Unidos, se presenta una ventana importante hacia la aceptación de los productos editados a nivel de productores, hacedores de políticas y consumidores en general. La existencia de marcos regulatorios, las regulaciones predominantes en la región sobre los productos derivados de la edición génica tienden a indicar que los materiales genéticos, producto de la edición génica cuando se demuestra que no contienen transgenes, tienen los mismos requisitos de aprobación que los obtenidos por mejoramiento convencional o mutagénesis natural o inducidas.

En LAC, aunque aún hay brechas para la aplicación de la edición de genomas, existe conocimiento de que el proceso puede ocurrir por inserción o deleción de una o más bases de ADN, de manera similar a lo que ocurre en las variedades obtenidas por mutaciones inducidas.

Lo anterior permite tener optimismo que el desarrollo de productos novedosos, puedan incorporarse al mercado rápidamente, sin la necesidad de atravesar un largo y costoso proceso regulatorio, lo que haría que la tecnología sea accesible a instituciones públicas y pequeñas y medianas empresas.

13. CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES

Además de generar productos novedosos, que favorecen también al consumidor y no solo al generador y al productor, la edición génica permitirá que, en varios países de la Región Andina y Cono Sur, los organismos mejorados por esta técnica, que no presenten inserciones de ADN foráneo, no requieran una regulatoria especial como los OGMs para su comercialización y estén regulados con los mismos criterios que los obtenidos por técnicas



convencionales de mejoramiento.

Para poder utilizar esta tecnología de manera efectiva y duradera en la mejora de cultivos, la comunidad científica necesita abordar las diversas preocupaciones de bioseguridad y de la sociedad al respecto, para que la información llegue directamente de los investigadores con datos científicos entendibles y no solamente de los medios de comunicación. De esta forma se educaría al público en general sobre qué es, cómo se genera, cómo funciona la edición de genomas junto con las propiedades de los productos comercializados.



14. REFERENCIAS

- Acquaah G. 2012. Principles of Plant Genetics and Breeding Second Edition, Maryland, USA. John Wiley & Sons, Ltd.
- Alexandratos N, Bruinsma J. (2012). World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. ESA Working paper No. 12-03. Rome, FAO.
- Anderson, R.M., May, R.M. (1997). Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control. Oxford University Press, New York, 757 pp. ISBN 0-19-854040-X.
- Andersson, M., Turesson, H., Olsson, N., Fält, A.-S., Ohlsson, P., Gonzalez, M. N., et al. (2018). Genome editing in potato via CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein delivery. *Physiologia Plantarum* 164, 378–384. doi:10.1111/ppl.12731.
- Barrantes E (2017) UCR trabaja en nueva variedad de arroz tolerante a la sequía y la salinidad. <https://semanariouniversidad.com/universitarias/ucr-trabaja-nueva-variedad-arroz-tolerante-a-la-sequia-a-lasalinidad/>. Accessed 30 August 2019.
- Barrero, 2019. Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia.
- Bastiaansen, J., Bovenhuis, H., Groenen, M., Megens, H., Mulder, H. (2018). The impact of genome editing on the introduction of monogenic traits in livestock. *Genetics Selection Evolution*, 50(1): 18.
- Baumann K. (2020). Plant gene editing improved. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21: 66
- Bevacqua R.J., Fernandez-Martín R., Savy V., Canel N.G., Gismondi M.I., Kues W.A., Carlson D.F., Fahrenkrug S.C., Niemann H., Taboga O.A., Ferraris S., Salamone D.F. (2016). Efficient edition of the bovine PRNP prion gene in somatic cells and IVF embryos using the CRISPR/Cas9 system. *Theriogenology* 86, 1886-1896.
- Bogliotti Y. S., Vilariño M., Chitwood J. L., Wu J., Mutto A., Mucci N., Belmonte J. C., Ross P. J. (2014). Developmental outcomes and efficiency of two crispr/cas9 microinjection methods in bovine zygotes. *Reproduction, Fertility and Development* 27, 94-94.
- Bonnecarrere V. 2019. Mejoramiento genético vegetal. Unidad de Biotecnología, INIA -



- URUGUAY. Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia.
- Borlaug N E. 1983. Contributions of Conventional Plant Breeding to Food Production. February, Volume 219, pp. 689-693.
- Bortesi L and R. Fischer 2015. The CRISPR/Cas9 system for plant genome editing and beyond *Biotechnology Advances* 33: 41–52.
- Carlson, D., Lancto, C., Zang, B., Kim, E., Walton, M., Oldeschulte, D., Seabury, C., Sonstegard, T., Fahrenkrug, S. (2016). Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines. *Nature Biotechnology*, 34(5), pp.479-481. doi:10.1038/nbt.3560.
- Carvajal A. 2019. Mejoramiento genético animal en Chile. INIA - CHILE. Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia.
- Chilcoat D, Zhan-Bin Liu, Jeffrey Sander. 2017. Use of CRISPR/Cas9 for Crop Improvement in Maize and Soybean
- Christian, M., Cermak, T., Doyle, E., Schmidt, C., Zhang, F., Hummel, A., Bogdanove, A. and Voytas, D. (2010). Targeting DNA Double-Strand Breaks with TAL Effector Nucleases. *Genetics*, 186(2): 757-761.
- Clop, A., Marcq, F., Takeda, H., Pirottin, D., Tordoir, X., Bibé, B., Bouix, J., Caiment, F., Elsen, J.M., Eychenne, F., Larzul, C., Laville, E., Meish, F., Milenkovic, D., Tobin, J., Charlier, C., Georges, M. (2006). A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nat Genet.* 38:813–8.
- Crispo, M., Mulet, A. P., Tesson, L., Barrera, N., Cuadro, F., dos Santos-Neto, P. C., Nguyen, T. H., Crénéguy, A., Brusselle, L., Anegón, I., Menchaca, A. (2015). Efficient Generation of Myostatin Knock-Out Sheep Using CRISPR/Cas9 Technology and Microinjection into Zygotes. *PloS one*, 10(8), e0136690. doi:10.1371/journal.pone.0136690.
- CTNBIO (2018) Resolution no.16 of January 15, 2018.; Brazilian Official Gazette
- de Jong P, Bertolotto and de Seze. 2018. From farm to fork: the regulatory status of non-gmo plant innovations under current eu law: vol 16 issue 6 bsrl.
- Doudna and Emmanuelle Charpentier. 2014. The new frontier of genome engineering with



- CRISPR-Cas9. SCIENCE sciencemag.org. 28 NOVEMBER 2014 • VOL 346 ISSUE 6213
- Doyon, Y., McCammon, J., Miller, J., Faraji, F., Ngo, C., Katibah, G., Amora, R., Hocking, T., Zhang, L., Rebar, E., Gregory, P., Urnov, F., Amacher, S. (2008). Heritable targeted gene disruption in zebrafish using designed zinc-finger nucleases. *Nature Biotechnology*, 26(6): 702-708.
- Duensing N, Sprink T, Parrott WA, Fedorova M, Lema MA, Wolt JD and Bartsch D (2018) Novel Features and Considerations for ERA and Regulation of Crops Produced by Genome Editing. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 6:79. doi: 10.3389/fbioe.2018.00079.
- Eckerstorfer MF, Engelhard M, Heissenberger A, Simon S and Teichmann H (2019) Plants Developed by New Genetic Modification Techniques—Comparison of Existing Regulatory Frameworks in the EU and Non-EU Countries. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 7:26. doi: 10.3389/fbioe.2019.00026
- El-Mounadi K, Morales-Florian ML and Garcia-Ruiz H (2020) Principles, Applications, and Biosafety of Plant Genome Editing Using CRISPR-Cas9. *Front. Plant Sci.* 11:56. doi: 10.3389/fpls.2020.00056.
- FAO (2019) Seguimiento del progreso en los indicadores de los ODS relacionados con la alimentación y la agricultura. Informe sobre los indicadores que custodia la FAO. <http://www.fao.org/fileadmin/templates/SDG-progress-report/2019-final/sdg-progress-report-print-ES.pdf>
- FAO 2017. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. A provechar los sistemas alimentarios para lograr una transformación rural inclusiva. Roma.
- FAO. 2014b. El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2014. La innovación en la agricultura familiar. Roma (disponible también en www.fao.org/3/a-i4040s.pdf).
- FAO. 2017. The future of food y agriculture - trends y challenges. Rome. <http://www.fao.org/3/a-i6583e.pdf>.
- FAO. 2019. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Progresos en la lucha contra la pérdida y el desperdicio de alimentos. Roma. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- FAO.2011. Biotechnologies for Agricultural Development. Proceedings of the FAO International Technical Conference on “Agricultural Biotechnologies in Developing



- Countries: Options and Opportunities in Crops, Forestry, Livestock, Fisheries and Agro-industry to Face the Challenges of Food Insecurity and Climate Change” (ABDC -10). Rome Italy.
- Feingold S. 2019. El desafío de la Edición de Genomas en Argentina y la Región. Laboratorio de Agrobiotecnología de la EEA Balcarce. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - INTA – ARGENTINA. Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia.
- Feingold, S. (2017). Genome Editing in Argentina: Initiatives and Prospective. ILSI Workshop on Genome Editing Technology in Agriculture. <http://www.ilsijapan.org/ILSIJapan/LEC/biotech/GenEd2017/05Feingold.pdf>
- Friedrichs, S., Takasu, Y., Kearns, P., Dagallier, B., Oshima, R., Schofield, J., (2019). Meeting report of the OECD conference on “genome editing: applications in agriculture—implications for health, environment and regulation”. *Transgenic Res.* 28, 419–463. doi: 10.1007/s11248-019-00154-1
- Gatica-Arias, 2020. The regulatory current status of plant breeding technologies in some Latin American and the Caribbean countries. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01799-1>
- Georges, F., and Ray, H. (2017). Genome editing of crops: a renewed opportunity for food security. *GM Crops Food* 8, 1–12. doi: 10.1080/21645698.2016.1270489
- Góngora, A., Hernández, A. (2010). La reproducción de la vaca se afecta por las altas temperaturas ambientales. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 13 (2): 141-151.
- Gottardo, F., Nalon, E., Contiero, B., Normando, S., Dalvit, P., Cozzi, G. (2011). The dehorning of dairy calves: practices and opinions of 639 farmers. *J Dairy Sci.* 94:5724-34.
- Grobet, L., Martin, L.J., Poncelet, D., Pirottin, D., Brouwers, B., Riquet, J., Schoeberlein, A., Dunner, S., Ménéssier, F., Massabanda, J., Fries, R., Hanset, R., Georges, M. (1997). A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nat Genet.* 17:71–4.
- Grohmann L, Keilwagen J, Duensing N, Dagand E, Hartung F, Wilhelm R, Bendiek J and Sprink



- T (2019) Detection and Identification of Genome Editing in Plants: Challenges and Opportunities. *Front. Plant Sci.* 10:236. doi: 0.3389/fpls.2019.00236
- Harlan JR. 1992. *Crops and Man*, 2nd edition. Madison, WI: American Society of Agronomy.
- Hickey LT, Hafeez A N, Robinson H, Scott A J, Leal-Bertioli S C M, Tester M Gao C, Godwin I D, Hayes B J, and Wulff Brande B. H. 2019. Breeding crops to feed 10 billion. *Nature Biotechnology* | VOL 37, JULY, 744–754. www.nature.com/naturebiotechnology
<http://www.nature.com/doi/10.1038/nature03154>.
- ICA 2018. Resolución no. 00029299 (https://diario-oficial.vlex.com.co/vid/resoluci-n-mero-736329965?_ga=2.121199179.279196541.1534802394-53836802.1534802394).
- ICA. (2000). Res1219 (18 MAYO 2000) Por la cual se autoriza la introducción de plantas de clavel modificado genéticamente.
- Intriago B. R, y Bravo E, V. 2015. Situación actual del Ecuador como territorio libre de transgénicos
- Kamburova V S, Nikitina Elena V, Shermatov S E Buriev, Zabardast T, Kumpatla S P, Emani C, and Abdurakhmonov I Y. 2017. Genome Editing in Plants: An Overview of Tools and Applications. *International Journal of Agronomy* Volume 2017, Article ID 7315351, 15 pages <https://doi.org/10.1155/2017/7315351>
- Kusano, H., Ohnuma, M., Mutsuro-Aoki, H., Asahi, T., Ichinosawa, D., Onodera, H., et al. (2018). Establishment of a modified CRISPR/Cas9 system with increased mutagenesis frequency using the translational enhancer dMac3 and multiple guide RNAs in potato. *Scientific Reports* 8, 13753. doi:10.1038/s41598-018-32049-2.
- Lema MA. 2019. Regulatory aspects of gene editing in Argentina. *Transgenic Res* (2019) 28:147–150 <https://doi.org/10.1007/s11248-019-00145-2>
- Li M R, Li X X, Zhou Z J, Wu P Z, Fang M C, Pan X P, Lin Q P, Luo W B, Wu G J, Li H Q. 2016. Reassessment of the four yield-related genes Gn1a, DEP1, GS3, and IPA1 in rice using a CRISPR/Cas9 system. *Front Plant Sci*, 7: 377.
- Lillico, S.G., Proudfoot, C., King, T.J., Tan, W., Zhang, L., Mardjuki, R., Paschon, D.E., Rebar, E.J., Urnov, F.D., Mileham, A.J., McLaren, D.G., Whitelaw, C.B.A. (2016). Mammalian



- interspecies substitution of immune modulatory alleles by genome editing. *Sci Rep.* 6:21645 <http://www.nature.com/articles/srep21645>.
- Liu, X., Wang, Y., Guo, W., Chang, B., Liu, J., Guo, Z., Quan, F., Zhang, Y. (2013). Zinc-finger nickase-mediated insertion of the lysostaphin gene into the beta-casein locus in cloned cows. *Nature Communications*, 4, 2565. doi:10.1038/ncomms3565.
- Liu, X., Wang, Y., Tian, Y., Yu, Y., Gao, M., Hu, G., Su, F., Pan, S., Luo, Y., Guo, Z., Quan, F., Zhang, Y. (2014). Generation of mastitis resistance in cows by targeting human lysozyme gene to β -casein locus using zinc-finger nucleases. *Proceedings. Biological sciences*, 281(1780), 20133368. doi:10.1098/rspb.2013.3368.
- Lusser M, Claudia Parisi^{1,3}, Damien Plan² & Emilio Rodríguez-Cerezo¹. 2012. Deployment of new biotechnologies in plant breeding. *nature biotechnology* volume 30 number 3 march
- Lv, Q., Yuan, L., Deng, J., Chen, M., Wang, Y., Zeng, J., Li, Z., Lai, L. (2016). Efficient Generation of Myostatin Gene Mutated Rabbit by CRISPR/Cas9. *Scientific Reports*, 6, 25029. doi:10.1038/srep25029.
- Ma, L., Sonstegard, T.S., Cole, J.B., VanTassell, C.P., Wiggans, G.R., Crooker, B.A., Tan, C., Prakapenka, D., Liu, G.E., Da, Y. (2019). Genome changes due to artificial selection in U.S. Holstein cattle. *BMC Genomics* 20, 128. doi:10.1186/s12864-019-5459-x.
- Maga, E.A., Cullor, J.S., Smith, W., Anderson, G.B., Murray, J.D. (2006). Human lysozyme expressed in the mammary gland of transgenic dairy goats can inhibit the growth of bacteria that cause mastitis and the cold-spoilage of milk. *Foodborne Pathog Dis.* 3:384–92.
- Martínez Sarmiento. 2019. Avances en selección Genómica y edición génica en Colombia. AGROSAVIA - COLOMBIA. Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia.
- Martínez, R., Martínez, J., Bejarano, D., Burgos-Paz, W. (2018). Genomic predictions and accuracy of weight traits in a breeding program for Colombian Zebu Brahman. *Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*,



- Volume Genetic Gain - Strategies for Local Breeds 2, 644.<http://www.wcgalp.org/proceedings/2018/genomic-predictions-and-accuracy-weight-traits-breeding-program-colombian-zebu>.
- Martínez, R., Onofre, G., Polanco, N. (2009). Parámetros genéticos y tendencias para características de crecimiento en el ganado criollo sanmartinero en los Llanos Orientales de Colombia. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu.* 10(2), 196-204.
- Martínez, R., Toro, R., Montoya, F., Burbano, M., Tobón, J., Gallego, J., Ariza, F. (2005). Evaluación genética para resistencia a brucelosis en ganado criollo colombiano BON. *Arch Zootec.* 54: 333-340.
- Martínez-Rocha, J.F., Gallego, J.L., Vásquez, R.F., Pedraza, J.A., Echeverri, J., Cerón-Muñoz, M.F., Martínez, R. (2012). Estimación de parámetros genéticos para edad al primer parto e intervalo entre partos en poblaciones bovinas de la raza Blanco Orejinegro (BON) en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(2), 220-228.
- Mayol V y Ahramjian L. 2017. GAIN Report Number GAIN Report Number DR1711. Dominican Republic Agricultural Biotechnological Annual.
- Miao J, Guo D, Zhang J, Huang Q, Qin G, Zhang Z, Wan J, Gu H, Qu G. 2013. Targeted mutagenesis in rice using CRISPR-Cas system *Cell Research* 23:1233-1236. doi:10.1038/cr.2013.123; published online 3 September 2013.
- Miguel, A., Gama, S., Gasper, R.D., Gregory, A.E. (2010). Animal transgenesis: an overview. *Brain Struct Funct.*, 214: 91-109.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2005). Decreto 4525 Por el cual se reglamenta la ley 740 de 2002, 11.
- Ministerio del Ambiente (2014). "Implementación del Marco Nacional de Bioseguridad". Disponible en <http://www.ambiente.gov.ec/implementacion-del-marco-nacional-de-bioseguridad/> (visitado el 3 de diciembre 2019).
- Mucci N. 2019. Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia. No.15, section 1, pages 7–8. (Published January 22, 2018).
- Núñez VM y Barrero LS. 2019. Mejoramiento genético vegetal en Colombia. AGROSAVIA -



- COLOMBIA. Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia.
- Ossa, G.A., Narváez, H.J., Noriega, J.G., Pérez, J.E., Vergara, O.D. (2014). Parámetros y tendencias genéticas para características de crecimiento en una población de ganado criollo Rimosinuano. *Livestock Research for Rural Development* 26, 191.
- Petersen, B. (2017). Basics of genome editing technology and its application in livestock species. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(3), 4-13
<https://doi.org/10.1111/rda.13012>.
- Prieto H. 2019. Mejoramiento genético vegetal en INIA – Chile (Humberto Prieto, 2019). Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia.
- Pursel, V.G., Pinkert, C.A., Miller, K.F., Bolt, D.J., Campbell, R.G., Palmiter, R.D., Brinster, R.L., Hammer, R.E. (1989). Genetic engineering of livestock. *Science*. 244:1281–8.
- Quiala E y Mendoza E. El mejoramiento genético vegetal en Ecuador. INIAP / ESPOL - ECUADOR. Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia.
- Quiala E y Mendoza E. El mejoramiento genético vegetal en Ecuador. INIAP / ESPOL - ECUADOR. Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia.
- Ran, F., Hsu, P., Lin, C., Gootenberg, J., Konermann, S., Trevino, A., Scott, D., Inoue, A., Matoba, S., Zhang, Y. and Zhang, F. (2013). Double Nicking by RNA-Guided CRISPR Cas9 for Enhanced Genome Editing Specificity. *Cell*, 155(2): 479-480.
- Ricroch A, Pauline Clairand and Wendy Harwood. 2017. Use of CRISPR systems in plant genome editing: toward new opportunities in agriculture
- Ruan, J., Xu, J., Chen-Tsai, R. and Li, K. 2017. Genome editing in livestock: Are we ready for a revolution in animal breeding industry? *Transgenic Research*, 26(6): 715-726.
<https://doi.org/10.1007/s11248-017-0049-7>
- SAG 2017. http://www.sag.cl/sites/default/files/RES_1523_2001.pdf
- SENTENCIA DEL TRIBUNAL DE JUSTICIA - Gran Sala - de 25 de julio de 2018.



- Shafran, D., Kodish, E., Tzakis, A. 2014. Organ shortage: the greatest challenge facing transplant medicine. *World J Surg.* 38:1650–7.
- Shanthalingam, S., Tibary, A., Beever, J.E., Kasinathan, P., Brown, W.C., Srikumaran, S. 2016. Precise gene editing paves the way for derivation of Mannheimia haemolytica leukotoxin-resistant cattle. *Proc Natl Acad Sci USA.* 113:13186–90.
- Si Nian C S, Wei J, Qi Mu2, Li X, J. Zhang Z J, Yu J and Yang B, Jansing, J., Schiermeyer, A., Schillberg S., Fische R, and Bortesi L, 2019. Genome Editing in Agriculture: Technical and Practical Considerations. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 2888; doi:10.3390/ijms20122888.
- situation for genetically modified organisms
- Smyth S J.2017. Canadian regulatory perspectives on genome engineered crops. *GM Crops & Food*, 8:35–43, 2017 Published with license by Taylor & Francis ISSN: 2164-5698 print / 2164-5701 online DOI: 10.1080/21645698.2016.1257468
- Solarte-Portilla, C.E., Zambrano-Burbano, G.L. 2012. Characterization and genetic evaluation of Holstein cattle in Nariño, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(4), 539-547
- Swartwood K • Joyce Van Eck1,2. 2019. Development of plant regeneration and *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation methodology for *Physalis pruinose*.
- Tait-Burkard, C., Doeschl-Wilson, A., McGrew, M., Archibald, A., Sang, H., Houston, R., Whitelaw, C. and Watson, M. (2018). Livestock 2.0 – genome editing for fitter, healthier, and more productive farmed animals. *Genome Biology*, 19, 204. doi:10.1186/s13059-018-1583-1.
- Tapasco, J., Martínez, J., Calderón, S., Romero, G., et al. 2015. Impactos Económicos del Cambio Climático en Colombia: Sector Ganadero. Banco Interamericano de Desarrollo, Monografía No. 254, Washington D.C.
- Thomas B Jacobs, Peter R LaFayette, Robert J Schmitz and Wayne A Parrott. 2015. Targeted genome modifications in soybean with CRISPR/Cas9.2015. *BMC Biotechnology* (2015) 15:16 DOI 10.1186/s12896-015-0131-2
- Thompson, N.M., Widmar, N.O., Schutz, M.M., Cole, J.B., Wolf, C.A. 2017. Economic



- considerations of breeding for polled dairy cows versus dehorning in the United States. *J Dairy Sci.* 100:4941–52 <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12099>.
- Thygesen. P. 2019. Clarifying the regulation of genome editing in Australia:
- Tripathi J. N.V., Ntui O., Ron M., Samwel Muiruri K., Britt2 A & Tripathi L. 2019. CRISPR/Cas9 editing of endogenous banana streak virus in the B genome of *Musa* spp. overcomes a major challenge in banana breeding. *COMMUNICATIONS BIOLOGY* | (2019) 2:46 | <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0288-7> | www.nature.com/commsbio.
- Tsuda M, Watanabe KN and Ohsawa R. 2019. Regulatory Status of Genome-Edited Organisms Under the Japanese Cartagena Act. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 7:387. doi: 10.3389/fbioe.2019.00387.
- U.S. Department of Agriculture. 2018. Secretary Perdue Issues USDA Statement on Plant Breeding Innovation. Washington, DC. Available online at: <https://www.usda.gov/media/press-releases/2018/03/28/secretary-perdue-issues-usdastatement-plant-breeding-innovation> (accessed March 17, 2020).
- United Nations. 2019. World Population Prospects 2019: Press Release. Department of Economic and Social Affairs, Population Division.
- Úsuga-Monroy, C., Echeverri, J.J., López-Herrera, A. 2018. El componente racial influencia la resistencia a la infección con el virus de la leucosis bovina. *Rev Med Vet Zoot.* 65(2):130-139. doi: 10.15446/rfmvz.v65n2.75632.
- Valavanidis A, 2016. New „Plant Breeding“ Techniques for Superior and Improved Cultivars in Agriculture. 6, Website: www.chem-tox-ecotox.org.
- Valdés S, Tohme J, Chavarriaga P .2019. Edición Génica con CRISPR/Cas9: Acelerando el mejoramiento de cultivos. CIAT – COLOMBIA. Alianza Bioersity Internacional - CIAT. Taller Técnico Edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe. Fondo semilla – Fontagro. Octubre 16 – 18. AGROSAVIA. Bogotá, Colombia.
- Van Eck J. 2017. Genome editing and plant transformation of solanaceous food crops. *Current Opinion in Biotechnology* 2018, 49:35–41
- Vu V T, Yeon Woo Sung, Jihae Kim, Duong Thi Hai Doan, Mil Thi Tran and Jae-Yean Kim1.2019. Challenges and Perspectives in HomologyDirected Gene Targeting in Monocot Plants.



In Rice • December.

- Wall, R.J., Powell, A.M., Paape, M.J., Kerr, D.E., Bannerman, D.D., Pursel, V.G., Wells, K.D., Talbot, N., Hawk, H.W. (2005). Genetically enhanced cows resist intramammary *Staphylococcus aureus* infection. *Nat Biotechnol.* 23:445–51.
- Waltz E.2016. CRISPR-edited crops free to enter market, skip regulation. *Nature Biotechnology* Volume 34 number 6 June. News.
- Wang F J, Wang C L, Liu P Q, Lei C L, Hao W, Gao Y, Liu Y G, Zhao K J. 2016. Enhanced rice blast resistance by CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of the ERF transcription factor gene *OsERF922*. *PLoS One*, 11(4): e0154027.
- Wang, S., Zhang, S., Wang, W., Xiong, X., Meng, F., and Cui, X. (2015). Efficient targeted mutagenesis in potato by the CRISPR/Cas9 system. *Plant Cell Reports*. doi:10.1007/s00299-015-1816-7.
- Wang, Y., Cheng, X., Shan, Q., Zhang, Y., Liu, J., Gao, C., & Qiu, J. L. (2014). Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nature biotechnology*, 32(9), 947-951. <https://doi.org/10.1038/nbt.2969>
- Whitworth, K.M., Rowland, R.R.R., Ewen, C.L., Tribble, B.R., Kerrigan, M.A., Cino-Ozuna, A.G., Samuel, M.S., Lightner, J.E., McLaren, D.G., Mileham, A.L., Wells, K.D., Prather, R.S. (2015). Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus.
- Wu, H., Wang, Y., Zhang, Y., Yang, M., Lv, J., Liu, J., Zhang, Y. (2015). TALEN nickase-mediated SP110 knockin endows cattle with increased resistance to tuberculosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(13): E1530-E1539.
- Xie K B, Yang Y N. 2013. RNA-guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system. *Mol Plant*, 6(6): 1975–1983.
- Yu, S., Luo, J., Song, Z., Ding, F., Dai, Y., Li, N. (2011). Highly efficient modification of beta-lactoglobulin (BLG) gene via zinc-finger nucleases in cattle. *Cell research*, 21(11), 1638–1640. doi:10.1038/cr.2011.153.
- Zachary H. Lemmon, Nathan T. Reem, Justin Dalrymple, Sebastian Soyk, Kerry E. Swartwood,



Daniel Rodriguez-Leal, Joyce Van Eck and Zachary B. Lippman

Zeng Y, Wen J, Zhao W, Wang Q and Huang W (2020) Rational Improvement of Rice Yield and Cold Tolerance by Editing the Three Genes OsPIN5b, GS3, and OsMYB30 with the CRISPR–Cas9 System. *Front. Plant Sci.* 10:1663. doi: 10.3389/fpls.2019.01663

Zhou J H, Peng Z, Long J Y, Sosso D, Liu B, Eom J S, Huang S, Liu S Z, Vera Cruz C, Frommer W B, White F F, Yang B. 2015. Gene targeting by the TAL effector PthXo2 reveals cryptic resistance gene for bacterial blight of rice. *Plant J*, 82 (4): 632–643.

Zong, Y., Song, Q., Li, C., Jin, S., Zhang, D., Wang, Y., et al. (2018). Efficient C-to-T base editing in plants using a fusion of nCas9 and human APOBEC3A. *Nature Biotechnology* 36, 950. Available at: <https://doi.org/10.1038/nbt.4261>.



Instituciones participantes





Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



www.fontagro.org

FONTAGRO
Banco interamericano de Desarrollo
1300 New York Avenue, NW, Stop
W0502, Washington DC 20577
Correo electrónico: fontagro@iadb.org