



Memorias del Taller “Nuevas Alternativas para el Fitomejoramiento”

Intituto Nacional de
Investigaciones Agropecuarias



GUILLERMO LASSO
PRESIDENTE

PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA

Guillermo Lasso Mendoza

MINISTRO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA

Bernardo Manzano

DIRECTOR EJECUTIVO DE INIAP

Raúl Jaramillo

EDITORES

Emilia Trueba, Julio Escobar, Pedro Rocha,
José Luis Zambrano, Katerine Orbe.

CITACIÓN CORRECTA

Trueba, E., Escobar, J., Rocha, P., Zambrano,
J., Orbe, K. (Ed.). (2022). Memorias del Taller
“Nuevas Alternativas para el
Fitomejoramiento”. INIAP, Quito, Ecuador.

DISEÑO

Unidad de Comunicación Social INIAP
Santiago Martínez

ISBN: 978-9942-22-570-2

INSTITUCIONES ORGANIZADORAS

Instituto Nacional de Investigaciones
Agropecuarias-INIAP

Instituto Interamericano de Cooperación para
la Agricultura-IICA

Departamento de Agricultura de los Estados
Unidos-USDA

INSTITUCIONES DE APOYO

Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT.

Universidad Estatal de Pensilvania-PSU.

Universidad de Georgia-UGA.

Arcadia Biosciences, Inc.

Escuela Politécnica del Litoral-ESPOL.

Universidad San Francisco de Quito-USFQ.

HILSEA, Ecuador.

COMITÉ REVISOR

Jorge Rivadeneira, Xavier Cuesta,
Diego Peñaherrera.

DISTRIBUCIÓN GRATUITA
PROHIBIDA SU VENTA

Instituto Nacional de
Investigaciones Agropecuarias



República
del Ecuador



PRESENTACIÓN

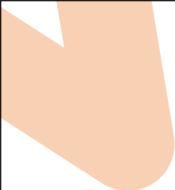
En Ecuador, por más de 62 años, el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (**INIAP**) ha sido la institución pionera y líder en investigación para el mejoramiento vegetal, la cual desde su creación ha desarrollado 280 variedades de alto potencial de rendimiento, que han sido desarrolladas mediante el uso de técnicas tradicionales de fitomejoramiento.

Los actuales retos que presenta la agricultura en el país y el mundo en relación a la obtención de nuevas variedades son cada vez más complejos, ya que deben responder a las características intrínsecas de la creciente demanda de alimentos debido al incremento poblacional, cambio climático y a las amenazas de nuevas y mayores plagas. Es así que, los fitomejoradores buscan obtener mayor producción de alimentos en menores superficies, generar variedades resilientes al cambio climático, resistentes a plagas, con productos más nutritivos y saludables, además de apoyar el desarrollo de sistemas de producción agropecuarios sostenible con menor impacto ambiental.

Diversas instituciones, empresas y universidades alrededor del mundo cuentan ya con líneas de investigación para edición genética. Entre el 2014 al 2017, se realizaron 52 investigaciones utilizando estas nuevas alternativas de mejoramiento genético en 15 cultivos, entre los que se destacan: arroz, tabaco, maíz, tomate, trigo, papa entre otros; los estudios se enfocaron en el incremento de rendimiento, mejoramiento en el contenido de nutrientes y tolerancia al estrés abiótico y biótico.

El taller “**Nuevas Alternativas para el Fitomejoramiento**” fue preparado con el fin de difundir y crear espacios de discusión sobre las nuevas tecnologías de mejoramiento genético que actualmente se desarrollan a nivel mundial, para lo cual se han invitado expertos internacionales vinculados con casos de desarrollo de nuevas variedades vegetales, entre los que se encuentran representantes del Centro Internacional de Agricultura Tropical (**CIAT**), la Universidad de Georgia (Estados Unidos), la Universidad del Estado de Pensilvania (Estados Unidos) y Arcadia Biosciences, Inc.

El desarrollo de este tipo de eventos es importante para fomentar el análisis y la discusión entre técnicos e investigadores del país con el fin de acelerar el desarrollo tecnológico sostenible del sector agropecuario. La investigación es una de las principales estrategias que permitirá al país dar el salto tecnológico que beneficie al sector agropecuario. Este taller permitió iniciar el diálogo y la discusión para favorecer el diseño e implementación de nuevos programas de fitomejoramiento en el INIAP, así como el establecimiento de alianzas estratégicas con centros de investigación y universidades nacionales e internacionales que participaron del evento.



A nombre del Ecuador y del INIAP, un instituto que constantemente innova en el desarrollo de tecnologías agropecuarias para el país, se presentan las memorias de este taller que se realizó en la ciudad de Guayaquil el 4 de septiembre del 2018, y al que asistieron alrededor de 150 investigadores, académicos, técnicos y autoridades relacionados con instituciones públicas y privadas del sector.

TABLA DE CONTENIDO

1. ANTECEDENTES	6
2. DESARROLLO DEL EVENTO	10
D. Presentación sobre el uso de CRISPR y otras NBTs en procesos de mejoramiento de cacao	10
E. Desarrollo de un foro de discusión entre investigadores y académicos sobre el potencial uso de NBTs en el Ecuador	10
3. MEMORIAS DEL EVENTO	11
¿Son las nuevas tecnologías (inteligencia artificial, edición precisa de genes, agricultura de precisión, entre otras) una solución para generar nuevas variedades vegetales en países en desarrollo?	11
Desafíos en la adopción de nuevas tecnologías de mejoramiento por productores, pequeñas compañías de semillas e institutos de investigación	17
Juegos finitos e infinitos - ¿Qué ha pasado con la agricultura los últimos 25 años?	17
Estudios y evaluaciones científicas vs medios de comunicación	18
Regulación global de NBT	20
Arcadia Biosciences, Inc. y TILLING	20
Edición de Genomas: Principios y Aplicaciones	24
Edición del genoma de los cultivos del CIAT	26
Regulación (ejemplo en Colombia)	28
Usos Potenciales de CRISPR y otras NBT en Mejoramiento Genético de Cacao	30
Red de Investigación en Cacao y Chocolate (PSU-CCRN)	30
Sector del cacao: Mercados globales y amenazas	32
Aplicaciones potenciales de CRISPR para cacao	32
4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES	38
5. BIBLIOGRAFÍA	39
6. ANEXOS	40

1. ANTECEDENTES

La Ley Orgánica de Agrobiodiversidad, Semillas y Fomento de Agricultura Sustentable del Ecuador define al Fitomejoramiento como “la ciencia que tiene como objeto modificar o alterar la herencia genética de las plantas para obtener tipos mejorados (variedades o híbridos), mejor adaptados a condiciones específicas y de mayores rendimientos económicos que las variedades nativas o tradicionales” (Registro Oficial N°10, 2017). En el Ecuador, el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias - INIAP es la institución pionera y líder en investigación en mejoramiento vegetal, el cual desde su creación ha desarrollado 274 variedades (84 en el presente siglo), mismas que han tenido distintos grados de adopción por parte de agricultores nacionales (Naranjo, 2017). Las variedades desarrolladas por INIAP han sido generadas mediante el uso de técnicas convencionales de fitomejoramiento, y se han incorporado en los últimos años herramientas biotecnológicas, como el uso de marcadores moleculares, a varios de los programas de fitomejoramiento.

En el ámbito global, durante los últimos años, varias instituciones de investigación en países desarrollados han avanzado en el desarrollo y aplicación de nuevas técnicas de mejoramiento genético para cultivos agrícolas basadas en edición genética, las cuales tienen una característica en común: los productos finales obtenidos (plantas o ciertas partes de ellas) no presentan genes foráneos o distintos a los de la especie utilizada, fundamento que difiere del concepto de intercambio de genes que rige la transgenia (Prieto, 2018). Se trata de un nuevo campo del mejoramiento genético que se aleja de las bases de intercambio de genes entre especies que caracterizan a los organismos genéticamente modificados, y a su vez de la creación y aplicación de instrumentos regulatorios alrededor del mundo, tema sobre el cual aún no se tienen definiciones. La edición genética edición del genoma o ingeniería del genoma, conocidas como “**New Breeding Techniques**” (NBT), son un tipo de ingeniería genética en la que el ADN del huésped se elimina, modifica o reemplaza en el genoma; y a diferencia de las primeras técnicas de ingeniería genética que insertan aleatoriamente material genético en el genoma del huésped, la edición genética se dirige a sitios específicos del genoma. “El término NBT emergió como una opción para referirse hacia la formación de tecnologías donde sus defensores esperaban que no sean consideradas transgénicas u Organismos Genéticamente Modificado en el usual sentido regulatorio, siendo así, eximidas de la regulación de productos transgénicos” (Whelan & Lema, 2015).

Esta tecnología posee ventajas sobre las técnicas de mejoramiento tradicionales y las propias las técnicas transgénicas (NBT Platform Secretariat, 2015), tales como: a) permite a los mejoradores desarrollar características deseadas en una planta a un ritmo mucho más rápido, b) ayuda a generar

resistencia genética a plagas, dando como resultado la reducción en el uso de pesticidas, y la generación de un impacto positivo para el medioambiente y para los consumidores, así como un beneficio económico para los agricultores, y c) contribuye a mejorar la precisión y la eficiencia del proceso de mejora de plantas para que los fitomejoradores aumenten la producción de alimentos de manera sostenible, es decir, más alimentos y eficiencia en el uso del agua, nutrientes y otros recursos.

Según Lusser et. al. (2011), la innovación en técnicas de fitomejoramiento es necesaria para enfrentar los desafíos globales, tales como crecimiento poblacional y cambio climático, en ambos casos generando una mayor demanda de alimentos y provocando una expansión de la frontera agrícola. Las NBT buscan contribuir a una solución para suplir las demandas de alimento, generando cultivos más eficientes, con un mayor rendimiento en un menor espacio, cultivos que suplan deficiencias nutricionales, cultivos que aligeren el trabajo de pequeños y grandes productores a un menor costo.

De acuerdo a lo propuesto por las Autoridades Competentes de la Unión Europea hacia el Grupo de Trabajo de Nuevas Técnicas (New Techniques Working Group, 2011), así como los reportes de NBTs del Centro Común de Investigación (JRC - Joint Research Centre) (JRC; IPTS; IHCS, 2012), estas técnicas se pueden agrupar en siete grupos:

1. Nucleasas con capacidad de unión específica a ADN (SDN - Site-Directed Nucleases); un creciente grupo representativo de técnicas relacionadas que incluyen, entre otras: “Dedos de Zinc”, nucleasas tipo activador transcripcional (TALEN - transcription activator-like effector nucleases), Meganucleasas y los Sistemas CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats).
2. Mutagénesis dirigida por oligonucleótidos (ODM - Oligonucleotide Directed Mutagenesis)
3. Cisgénesis-intragénesis
4. Metilación de ADN dependiente de ARN (RdDM - RNA-dependent DNA methylation)
5. Injertos de vástagos no transgénicos sobre portainjertos transgénicos
6. Segregantes negativos
7. Agro-infiltración / Agro-inoculación

Los dos primeros grupos corresponden a técnicas vinculadas con la edición genética, un grupo de tecnologías que busca generar modificaciones puntuales sin introducir nuevo ADN en el genoma receptor, en cuyo caso se trata de material no reconocido como genéticamente modificado (no OGM); mientras que los otros grupos de NBTs son técnicas vinculadas a la transformación genética, las cuales no son nuevas desde su concepción metodológica porque implican transformación genética por métodos como *Agrobacterium* y biobalística, sino que la novedad radica en que su producto final difiere de las plantas netamente transgénicas, ya que se han utilizado genes de la misma especie o de especies que sean compatibles sexualmente por cruzamiento (Prieto, 2018).

Diversas instituciones, empresas y universidades alrededor del mundo cuentan ya con líneas de investigación para edición genética en cultivos, y existen desarrollados productos obtenidos con estas tecnologías en maíz, soya, arroz, trigo y champiñones que han sido ensayados en campo abierto, sin procesos de supervisión o regulación (Tetsuya & Motoko, 2016). Conocer las particularidades de estas técnicas, así como casos exitosos en investigación y desarrollo de nuevos cultivos, es una importante estrategia para favorecer el diseño e implementación de nuevos programas de fitomejoramiento; además del establecimiento de alianzas estratégicas con centros de investigación y universidades internacionales, que faciliten la transferencia de estas tecnologías a los centros de investigación, universidades y campos experimentales ecuatorianos, con el fin de generar proyectos y programas de fitomejoramiento que faciliten el desarrollo de nuevas variedades agrícolas para el agro ecuatoriano. El resultado de adecuados procesos de fitomejoramiento, le permitirá al sector agropecuario contar con insumos que permitan un desarrollo de una agricultura sostenible, elemento estratégico de trabajo del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador y de su perspectiva de producción limpia de alimentos en el país.

Los insectos infectados/ esporulados con hongos entomopatógenos en trampas cromáticas con adherente que se utilizan para aislamiento y multiplicación, son tomados de la parte media de la trampa hasta el borde superior de la misma, extrayendo porciones de los insectos esporulados con una pinza y se colectan en un tubo eppendorf. No se colecta del borde inferior de la trampa debido a que la acumulación de goma inhibe la esporulación. Las muestras serán debidamente etiquetadas y llevadas al laboratorio para su procesamiento y aislamiento de hongos entomopatógenos.

1.3.3 Técnica de “Insecto Trampa”

Se realizan colectas de suelo en tarrinas, etiquetando la tapa y realizando orificios en esta con una aguja para permitir el paso de aire, luego se transfieren larvas de ***Galleria mellonella*** o ***Tenebrio molitor*** (Figura 3). Transcurridos de 5 a 7 días se remueven los insectos muertos, observándose que estos presentan crecimiento de hifas donde se recuperan estas mediante siembra en medio de cultivo ***Saboreaud Dextrosa más Dodine***.

2. DESARROLLO DEL EVENTO

Se definieron los siguientes momentos para el taller:

A. Un espacio de apertura para la discusión técnica, sobre las potencialidades de las nuevas tecnologías desarrolladas en el agro - como la inteligencia artificial, la edición precisa de genes en mejoramiento vegetal, la agricultura de precisión, entre otras, como alternativas para la generación de nuevas variedades vegetales en los países en desarrollo.

B. Análisis sobre los desafíos para la adopción de NBTs por productores / pequeñas empresas / institutos de investigación en países en desarrollo.

C. Presentación de la experiencia del Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT en edición genética de cultivos (yuca, arroz, fréjol) para desarrollar variedades públicas regionales.

D. Presentación sobre el uso de CRISPR y otras NBTs en procesos de mejoramiento de cacao.

E. Desarrollo de un foro de discusión entre investigadores y académicos sobre el potencial uso de NBTs en el Ecuador.

El detalle se observa en el **Anexo 1**.

Adicionalmente, como actividad complementaria al evento, se tuvo una visita y reunión académica en la Universidad San Francisco de Quito, donde se realizaron presentaciones cortas en similar alcance al evento principal. En este evento participaron docentes y estudiantes de la Universidad San Francisco de Quito, así como profesionales técnicos y fitomejoradores del INIAP.

3. MEMORIAS DEL EVENTO¹

¿Son las nuevas tecnologías (inteligencia artificial, edición precisa de genes, agricultura de precisión, entre otras) una solución para generar nuevas variedades vegetales en países en desarrollo?

Wayne Parrott, Universidad de Georgia, Estados Unidos.

La generación anterior de fitomejoradores dedicó toda su carrera a crear nuevas variedades sin la facilidad de la tecnología que se tiene hoy en día. Desde hace 30 años la tecnología ha cambiado muy rápido; dentro de las biotecnologías de precisión existe una, la edición genética, la cual posee el mayor potencial para efectuar el tipo de cambio necesario para afrontar los desafíos a los cuales se enfrenta la humanidad. Existe un compromiso con la sociedad de comunicar qué es esta tecnología y los beneficios que puede brindar a todos. El primer compromiso con la sociedad es explicar ¿qué es la modificación genética?

Los cultivos de hoy en día tienen mucha variedad, pero se debe tener en cuenta que ninguno de estos cultivos fue encontrado en la naturaleza, son el resultado de más de 100 años de selección humana. Las diferencias en los genes que vuelven posible la aparición de distintas variedades se conocen como diversidad genética. Por ejemplo, las frutillas como las conocemos hoy en día no siempre han sido de esa forma; antiguamente, se conocía únicamente la frutilla de Norteamérica, *Fragaria virginiana*, hasta que en 1714 científicos franceses descubren la frutilla chilena, *Fragaria chiloensis*, y llevan a ambas variedades a Francia. En 1765, se cruza a la frutilla americana (*F. virginiana*) con la frutilla chilena (*F. chiloensis*) al sembrarlas juntas, dando como resultado *F. ananassa*, la frutilla moderna. De igual manera ocurrió con el repollo silvestre, el cual por medio de selección de características específicas (hojas más grandes, tallos más grandes, color, entre otros) dio como resultado la col, la cual se obtuvo en el año 500 a. C., y de esta surgieron el colinabo (Alemania, 100 d. C.) y el repollo (100 d. C.). Del repollo nace la coliflor en el siglo XV y las coles de Bruselas en el siglo XVIII en Bélgica y la coliflor en el siglo XVI da paso al brócoli en Italia.

Es importante reconocer que todos los cultivos que existen en la actualidad han sido altamente modificados por selección. Se debe tener claro que no es posible cambiar un rasgo sin cambiar el ADN. Por ejemplo, el tomate ha sido modificado e incluso cruzado con otras especies para obtener los rasgos deseados, razón por la cual el tomate cultivado (modificado) es incluso 10 veces más grande que el tomate silvestre. En el caso de los tomates alargados, se tomó un segmento del cromosoma 10, éste fue duplicado e insertado en el cromosoma 7, creando el tomate

¹ El contenido refleja lo expresado por los expositores en cada una de las presentaciones, así como las intervenciones desarrolladas por asistentes. No representan el punto de vista institucional de las instituciones organizadoras ni de los editores de este documento.

alargado que se conoce hoy en día.

Los cambios al **ADN** son comunes en la naturaleza. Hasta la fecha, no se ha podido identificar un riesgo conocido a la inocuidad alimentaria que provenga de un cambio al **ADN**, y lo que se busca hacer en el laboratorio es copiar los cambios que ocurren de forma natural. Cabe recalcar que hablar de un organismo genéticamente modificado (OGM) es utilizar netamente un concepto legal y no una descripción biológica. Hablar de un **OGM** se refiere al proceso utilizado para la modificación y no al tipo de modificación. Los **OGM** son sujetos a varias regulaciones que no se aplican a otras modificaciones.

Los fitomejoradores poseen dos trabajos principales: agregar o eliminar rasgos o características. En el caso de la soya, antiguamente ésta tenía una semilla negra, por lo que el aceite poseía ese color, siendo algo indeseado comercialmente, así que se modificó la semilla para eliminar esa característica.

También se redujo la cantidad de ácido linolénico en el aceite de soya, puesto que al hidrogenizarlo formaba alta cantidad de grasas trans; finalmente se aumentó el tamaño de su semilla, considerada muy pequeña. Como se mencionó anteriormente, se desea descartar rasgos indeseados y los mejoradores buscan inicialmente crear cambios en los rasgos mediante mutaciones naturales, pero si éstas no existen, se deben inducir. En la base de datos de FAO/IAEA, se encuentran registradas más de 3217 variedades.



Fig. 1 Cambios realizados en soya mediante mejoramiento.

Fuente: Parrott, W. (2018) "Conferencia: ¿Son las biotecnologías de precisión una solución para crear variedades nuevas para países en vías de desarrollo?" [diapositivas PowerPoint]. Guayaquil, Ecuador.

La mutagénesis tradicional posee ciertas limitaciones, entre las que destacan: el hecho de ser completamente al azar, es así que puede o no aparecer el rasgo que se desea, y otra limitante muy importante es que muchas plantas poseen genes multiplicados, lo que dificulta mutar a genes que se encuentran presentes en múltiples copias, como ocurre en el caso del trigo, el cual puede ser diploide, tetraploide o hexaploide. Frente a estas dificultades, aparece la edición genética, permitiendo editar varias copias de varios genes a la vez.

Previo a la edición genética, la única alternativa para remover rasgos que tenían genes múltiples era la ingeniería genética. Se colocaba una copia de un gen específico dentro del genoma, como se realizó en papas (White Russet) y manzanas (Arctic) donde se retiró el gen de pardeo, creando papas y manzanas que no se oxidan. En el caso del aceite de soya, se creó un aceite de soya con calidad de aceite de oliva al precio de aceite de soya, al tener alto ácido oleico y bajo ácido linolénico. La meta para el 2023 es tener 30 millones de hectáreas de este tipo de soya sembrada en EE.UU. Por medio de la ingeniería genética, también se han introducido características visuales, agradables a los ojos del consumidor, como es el caso de la piña rosada.

A diferencia de la ingeniería genética, en edición genética se remueve una porción del gen o el gen entero, pero no se agregan nuevos genes. Por esta razón, no son considerados OGM. Las tecnologías de edición genética (New Breeding Techniques, NBT) cambiaron su nombre, puesto que el público desaprobó la palabra technique (técnicas, en inglés) por su asociación con maquinaria y artificialidad. Es por esto que NBT cambió su nombre a New Breeding Innovations (NBI).

Dentro de las NBI, se encuentran las meganucleasas y la mutagénesis dirigida por oligonucleótidos, las cuales han existido por mucho tiempo, pero al ser difíciles de usar, no recibieron mayor adopción. Después de estas apareció la técnica de nucleasas con dedos de zinc, a los pocos meses TALENs y la más nueva CRISPR/Cas, la cual tiene el costo más bajo, es la más sencilla de utilizar y es la más versátil. Todas estas tecnologías fragmentan el ADN en un sitio específico, y cuando la planta cura esta ruptura queda una cicatriz en el ADN, por lo que el gen deja de funcionar. Con mutagénesis esta ruptura es completamente al azar, pero con edición genética se puede seleccionar el lugar exacto donde efectuar esta ruptura.

En la tecnología de dedos de zinc, se utilizan proteínas sintéticas para reconocer tres nucleótidos específicos antes y tres nucleótidos después del gen, y mediante enzimas (nucleasas) se realiza el corte de este segmento. En el caso de los TALENs (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) cada proteína reconoce una base nitrogenada específica. Con estos procedimientos se elimina la incertidumbre que existía en la mutagénesis. Para llevar a cabo la edición genética es

necesario tener secuenciado el genoma a editar y utilizar bioinformática tanto para hallar las secuencias deseadas como para diseñar los dedos de zinc, los TALENs o los CRISPR; de no ser por estas herramientas, no se podría llevar a cabo la edición genética. Finalmente, se encuentra la tecnología de CRISPR que se comporta similar a la mutagénesis y utiliza una guía para reconocer la “secuencia blanco”, de esa forma la endonucleasa Cas (endonucleasa asociada a CRISPR) realiza el corte. Adicionalmente, es importante mencionar que esta tecnología no depende de proteínas específicas para funcionar. La flexibilidad de esta tecnología radica en que una sola guía puede reconocer todas las copias de un mismo gen; también pueden utilizarse varias guías para editar simultáneamente varios genes distintos.

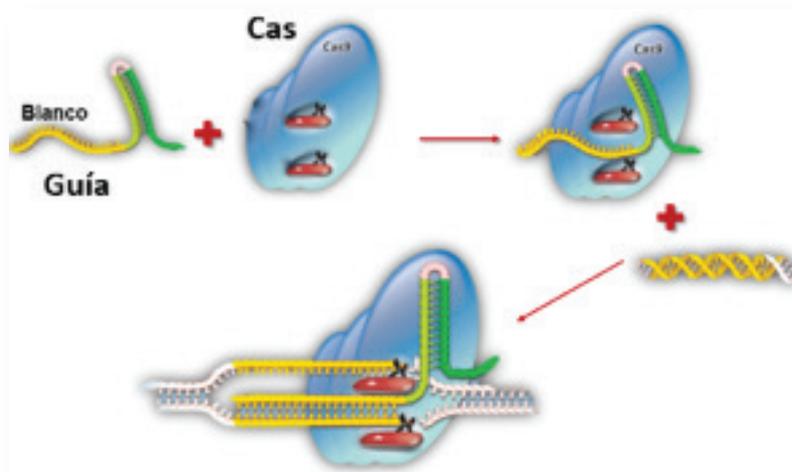


Figura 2 Tecnología de CRISPR/Cas para edición genética.

Fuente: Parrott, W. (2018) Conferencia: “¿Son las biotecnologías de precisión una solución para crear variedades nuevas para países en vías de desarrollo?” Guayaquil, Ecuador

La tecnología de CRISPR/Cas fue descubierta en yogurt con presencia de *Streptococcus thermophilus* que poseía un virus en su membrana y se encontró que existían bacterias que no se contagiaban con el virus.

Las plantas poseen características que se pueden quitar (indeseados), dando como resultado tomates resistentes a oídio/mildiú, tomates sin semillas, champiñones que no se oxidan, plantas de tomate con más racimos, semillas más grandes de trigo (al eliminar tres genes), eliminación de redundancia en genes (reduciendo gasto energético en expresión de estos), entre otros.

El CRISPR que se utiliza hoy en día proviene de *Streptococcus pyogenes*, no el encontrado originalmente en yogurt. Esta tecnología

posee ciertas limitaciones: debe iniciar con un nucleótido G, tener 19 bases y finalizar con dos nucleótidos G, y esto limita el número de blancos que se pueden editar. Estas limitaciones son determinadas por la endonucleasa; es importante determinar la eficiencia y especificidad de la endonucleasa para que no realice cortes en otros lugares del genoma. Existen variedades de Cas, actualmente se trabaja en cinco variedades distintas para tener la flexibilidad de editar el gen que se desee.

El mejoramiento genético busca que un solo organismo acumule características deseadas, entre estas: calidad, tolerancia a herbicidas, características agronómicas, resistencia contra plagas, entre otras; un ejemplo es que se ha creado soya con resistencia a distintas enfermedades.

Antiguamente, el trabajo de los mejoradores era añadir rasgos sin el uso de ingeniería genética; por ejemplo, una planta de soya susceptible a la enfermedad “mancha de ojo de rana”, causada por *Cercospora sojina*, era infectada por este hongo, y se encontró resistencia a esta enfermedad en una soya silvestre. Consecuentemente, los mejoradores tomaron la soya cultivada y la silvestre y las cruzaron repetidas veces (mejoramiento tradicional) lo cual tomó de 8 a 12 años para que el rasgo deseado (resistencia) fuera añadido; es importante notar que, con edición genética este proceso habría demorado ocho meses aproximadamente. La principal diferencia entre la edición genética y la ingeniería genética es que en edición genética no se agregan genes adicionales; lo que se hace es corregir o editar un gen ya existente.

A futuro se espera conseguir mayor eficiencia en edición genética al hacer el corte de ADN para la edición genética, en vez de dejar una cicatriz se coloca un fragmento de ADN y al reparar la lesión este ADN queda incorporado, es decir, que se busca reemplazar genes. Cabe recalcar que esta tecnología todavía no se encuentra disponible; en la actualidad, los mejoradores poseen la tecnología para manejar genes de los extremos de los cromosomas, no obstante, el tercio medio, donde se encuentran la mayor cantidad de genes, no es accesible a ellos, pero sí lo es para la edición genética. La visión de usar la edición genética en lugar de las otras tecnologías que se usan hasta la fecha se conoce como Mejoramiento 4.0.

En el mejoramiento convencional el promedio para la obtención de una nueva variedad es de 8 a 12 años, a la ingeniería genética toma de 15 a 20 años por los marcos regulatorios del comercio global y a la edición genética le toma 4 años en realizarse y salir al público.

En la actualidad, el descarte de características se considera “sencillo”, pero agregar un rasgo por otro no es considerado así, además se habla de los “efectos no blanco”, llamados off targets en inglés, que son

efectos no esperados o programados al realizar una modificación. Dentro del mundo agrícola y vegetal estos no suelen considerarse de importancia porque no afectan a la inocuidad alimentaria, pero sí lo son en el mundo de la medicina y en animales. Ahora, aun cuando el producto final de la edición genética no es un OGM, todavía posee una etapa OGM, ya que no todas las variedades se prestan para ese proceso de transformación genética, todas las inversiones previas en tecnología de transgénicos ahora se están utilizando para capitalizar edición genética.

El marco normativo para edición genética se observa bastante favorable. En Estados Unidos existe un marco regulatorio para biotecnología en general, el cual comprende a tres entidades: USDA, EPA y FDA. USDA controla principalmente lo relacionado con plagas agrícolas, y para realizar edición genética no se debe consultar con ninguna autoridad debido a que lo consideran como mutagénesis, e incluso se encuentran en conversaciones para aplicar esta política en algunos transgenes. Por otro lado, EPA se encarga de pesticidas y regula cualquier modificación de genes relacionados a este tema; es decir que, si uno utiliza edición genética para crear resistencia, la EPA los trata como pesticidas, no obstante, si se edita una característica que no tenga que ver con resistencia, la EPA no posee competencias. Finalmente, la FDA que regula situaciones con respecto a alimentos no se ha pronunciado, pero podría seguir la política que tenía con transgénicos o no exigir regulación a la edición genética. En Europa, la EFSA (European Food Safety Authority) cumple las tres funciones, pero solo asesora, no es regulatoria; quien toma las decisiones son políticos y no científicos. A nivel sudamericano el panorama se observa más prometedor, esta tecnología se presta para todos los cultivos del continente. Colombia, Brasil, Argentina y Chile ya tienen normativas regulatorias favorables, se han colocado barreras sensatas, pero no imposibles de superar; se presume que Sudamérica liderará el mundo en este ámbito puesto que existe un marco regulatorio a favor de esta tecnología.

Por otra parte, el gremio de fabricantes de alimentos GMA (Grocery Manufacturers Association) y el movimiento orgánico IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) no están a favor de esta tecnología. Se los debe convencer de que si se maneja correctamente el tema no habrá el mismo problema que con los transgénicos.

La edición genética es una gran tecnología, con potencial para acelerar y ampliar el desarrollo de variedades mejoradas, con respecto a rendimiento, calidad, sustentabilidad, entre otros, y el marco regulatorio es favorable. El único tema delicado es la percepción pública, es por esto que es de incumbencia de los científicos comunicar que es una tecnología inocua, únicamente copia el proceso natural y

puede ofrecer una vida mejor para todos.

Síntesis de preguntas, respuestas y comentarios del público

¿Con el trabajo que se está haciendo en su laboratorio, cuándo se espera suplir la inespecificidad de las Cas?

Ya se lo ha hecho, falta publicar los datos y hacer públicos los vectores. Existen varios laboratorios trabajando en ese tema, tanto en sector privado como el sector público.

¿Tienen experiencia en activadores de promotores?

No, lamentablemente no hemos tratado.

La Constitución del Ecuador establece que el Ecuador es un país libre de transgénicos. Quizás esto es una barrera en Ecuador para el desarrollo de este tipo de investigaciones y mejorar la calidad de los cultivos, y tomando en cuenta de que somos libres de transgénicos aún se encuentran en los supermercados productos que dicen que “contienen transgénicos”.

Es importante enfatizar que el producto final no es transgénico, existe tecnología transgénica para hacer híbridos, pero la semilla que se vende a los consumidores ya no contiene esos transgenes y no cuenta como transgénico. El simple hecho de que hubo una etapa transgénica no quiere decir que todavía es transgénico, solo porque el abuelo haya sido transgénico, los nietos no tienen que serlo. Por eso es importante explicar que el transgénico es agregado un ADN de una fuente no compatible de manera natural, y la edición genética no cumple con esa definición.

Desafíos en la adopción de nuevas tecnologías de mejoramiento por productores, pequeñas compañías de semillas e institutos de investigación.

Keith Redenbaugh, Arcadia Biosciences, Inc., Estados Unidos.

Para dirigirse al tema de **NBT (New Breeding Techniques)**, se debe recapitular sobre lo que ha sucedido en la agricultura los últimos 25 años; es así que se plantea el tema como:

Juegos finitos e infinitos - ¿Qué ha pasado con la agricultura los últimos 25 años?

Los juegos finitos e infinitos pueden relacionarse con lo que ha sucedido en la agricultura los últimos 25 años, la industria pro biotecnología juega un juego finito y los oponentes, las personas anti biotecnología juegan un juego infinito. Para tener éxito en este juego en agricultura, lo más importante es dar a los consumidores productos que deseen. El concepto de juegos finitos e infinitos fue desarrollado por James P. Carse y discutido por Simon Sinek.

Con el fin de verlos en perspectiva, un ejemplo de juego finito e infinito es que hace 50 años, EE.UU. peleó la guerra de Vietnam junto con Vietnam del sur, contra Vietnam del norte. En enero de ese año, hubo una batalla que ganaron los estadounidenses y a partir de ésta, todas las batallas de los siguientes 6 meses, pero perdió la guerra. EE.UU. jugó un juego finito, donde existe una razón para ir a la guerra, se va a la guerra, existen límites, y se pelea hasta que el enemigo sea derrotado, se canta victoria y se ha ganado. Pero los norvietnamitas no jugaban para ganar, sino para perdurar más tiempo que su enemigo (juego infinito), y eso sucedió: EEUU se cansó y se retiró.

En un juego finito existen ganadores y perdedores, las reglas son conocidas y los límites son definidos por ambos lados, al final de un tiempo un equipo gana y otro pierde, como en cualquier deporte. Por otro lado, en los juegos infinitos no existen ganadores o perdedores, usualmente no existen reglas o son interpretables, el oponente cambia tanto como el juego en sí. Los competidores pierden el juego infinito cuando pierden la voluntad o los recursos para competir; la meta es perdurar más que la competencia.

Estudios y evaluaciones científicas vs. medios de comunicación

De forma similar ocurre en la agricultura, la biotecnología juega un juego finito: se desarrolla un nuevo producto, se obtienen datos de seguridad alimentaria y ambiental, se consiguen aprobaciones, se consigue aprobación de productores, se convence al mercado y se procede a lanzar el producto; se juega bajo las reglas y el proceso es lógico y honesto. En el juego finito, la biotecnología posee poder; el poder de los reguladores del gobierno, en compañías que desarrollan estos productos y en universidades que hacen investigaciones el mismo que se obtiene por un número limitado de personas. En este juego finito han tenido éxitos: maíz, soya, canola, entre otros (únicamente en ciertas partes del mundo), pero en términos generales están perdiendo la guerra. En Europa no existe un panorama muy favorable, en Asia perdieron el mercado; en Ecuador perdieron por declararse libre de transgénicos en su Constitución y con etiquetación de productos. Ahora, en EE.UU. se está perdiendo con nuevos productos de alta calidad que han decidido ser etiquetados como libres de transgénicos. Los “adversarios” de la biotecnología están jugando un juego infinito mediante una visión de agricultura natural, hablando directo con los consumidores y no con productores como lo hizo la biotecnología; tienen acercamientos filosóficos, buscan ganar el corazón de los consumidores y buscan perdurar más que la industria pro biotecnología. Cambian sus tácticas, tienen fuerza, y obtienen apoyo por el miedo de que ocurran desastres científicos como han ocurrido en el pasado, predicando miedo de lo que podría pasar y los individuos usan el poder en redes sociales para hablar contra los OGM. Ahora, el cuestionamiento es si seguir en el juego con nuevas tecnologías como las NBT.

Nuevas Tecnologías de Fitomejoramiento (NBT) - OGM

Si se continúa utilizando la táctica del juego finito (ordenado, lógico, científico) se perderá la guerra, como ocurrió con OGM. Entonces, el juego infinito con las NBT, al igual que los adversarios, primero, debe tener una causa en la cual creer, y creer que lo que se hace es bueno, es justo, es esencial; es bueno tanto para productores como para consumidores, para países ricos y países pobres; en resumen: que sea bueno para la gente. Las NBT son un componente crucial en la agricultura sostenible, por lo tanto, la causa justa de estas no es lucrar, o patentar la tecnología ni tener crédito como científico. La causa justa es crear una agricultura sostenible de larga duración que las personas quieran. Se necesitan líderes que expliquen que las NBT son críticas para la seguridad alimentaria, y estos líderes deben aguantar presión y unirse con otros líderes. Se necesita un adversario digno, se lo debe respetar puesto que comparten metas de agricultura sostenible, pero poseen herramientas distintas. Finalmente, se compite contra las NBT mismas, ¿resultan éstas buenas para toda la sociedad? ¿La sociedad las ve como beneficios positivos? ¿Las personas aceptan y aprueban las NBT? El éxito o fracaso se mide con la causa justa.

El fallo en los OGM fue que no se explicó a la gente los beneficios de estos productos hacia ellos, por lo que se debe permitir a los adversarios exigir que las NBT encajen con la causa justa. Los OGM únicamente se explicaron a los productores, pensando que si se conseguía aprobación de ellos se ganaba el juego, pero los adversarios acudieron al consumidor. Han existido incontables estudios científicos, regulaciones y reportes para los OGM, explicando cómo los OGM son seguros, existen sociedades científicas que dicen que los productos son seguros. Desafortunadamente, la comunicación que se ha realizado no ha sido suficientemente, mucho ha sido por las redes sociales. Los adversarios se comunican con los consumidores mediante redes sociales, páginas web y publicaciones donde la prioridad no es comprobar si lo que se ha dicho es cierto, lo que hace que la gente tema a los OGM. Incluso en el cine se aprovecha el problema o incomodidad que suele sentir la gente hacia los científicos, creando películas con desastres científicos que alimentan los temores, por lo que se debe encontrar un punto medio entre pro OGM y anti OGM. En EE.UU. existe una etiqueta que dice Non GMO Project verified (verificado por el proyecto No-OGM), por el cual la gente se deja llevar mucho y cada vez se lo ve en más productos, que las NBT sean consideradas o no como OGM depende considerablemente de la opinión pública.

Hoy en día se pueden conseguirse kits de CRISPR en línea, por ser una tecnología de bajo costo y poderosa. La pregunta es si las

NBT como CRISPR serán consideradas como no OGM. Esto es importante por dos razones: por la parte regulatoria, como OGM es muy caro conseguir aprobación en países de todo el mundo, y por la aceptación pública; si CRISPR y NBT se consideran OGM habrá un problema para la aplicación de estas nuevas tecnologías.

Regulación global de NBT

No existe un consenso con respecto a la NBT, pero se han tomado algunas decisiones. Para muchos países el tema clave es el tipo de Nucleasas Sitio Dirigidas (SDN por sus siglas en inglés) y la definición de OGM en sus regulaciones. Los países deben decidir cómo regular esto.

En la UE (Unión Europea) existe un principio de precaución, el cual estipula que a menos de que se pueda probar que un producto es seguro, se debe realizar más investigación. En enero de 2018, la UE extendió una respuesta sobre la regulación de NBT, estipulando que las NBT deben ser eximidas de la regulación de OGM; sin embargo, en julio del mismo año, la Corte de Justicia de la UE decretó que todo tipo de mutagénesis debe ser regulada como OGM.

En EE.UU., USDA posee un proceso de regulación donde las compañías envían sus muestras sobre sus productos e información y se determina si el producto debe o no ser regulado como OGM. El proceso en EE.UU. se ve muy favorable, mientras que Canadá tiene una regulación que estipula que, si se ha desarrollado un nuevo tipo de planta, distinta a la conocida en el mercado, se debe demostrar que es seguro; esto se aplica para todo tipo de producción de plantas. En Sudamérica, muchos países presentan un panorama favorable donde se busca cómo regular, sin frenar a las NBT. En Asia se observa un panorama favorable donde existe la posibilidad que se consideren como productos de mutagénesis y no OGM; en Nueva Zelanda determinó que cualquier técnica no utilizada antes del 29 de julio de 1998 se considera como un OGM y debe atenerse a esas regulaciones. Actualmente, en el mundo es una situación mixta para la regulación de NBT y se debe esperar para observar cómo esto progresa.

Arcadia Biosciences, Inc. y TILLING

Arcadia Biosciences trabajaba con transgénicos, lanzó al mercado un producto desarrollado mediante ingeniería genética: aceite de cártamo. Este aceite es rico en ácido gama linolénico y ha estado en el mercado por diez años. Desarrollaron este producto como “producto de identidad”, donde la compañía vende el aceite y no vende semillas, al vender directamente el aceite no debían atenerse a todas las regulaciones de OGM para cultivos. Finalmente, Arcadia Biosciences trabaja en una nueva tecnología conocida como TILLING, la cual es muy

similar a la mutagénesis básica, no obstante, sí podría considerarse como OGM en el futuro; actualmente trabajan en TILLING con trigo, arroz, canola y soya.

Se recomienda no dejar de lado la nueva mutagénesis (TILLING) y focalizarse en NBT en cultivos de importancia para el Ecuador. Si el Ecuador es un país libre de transgénicos, y se determina a las NBT como transgénicos, el repertorio de herramientas para mejoramiento de cultivos disminuirá, por lo que se debe tener cuidado de las decisiones que se toman.

Se debe dejar de jugar el juego finito, bajo las reglas del juego finito. Se debe reconocer el juego infinito y jugarlo. Para tener éxito con NBT se debe crear un producto que al consumidor le atraiga, le guste y lo quiera tener.

Síntesis de preguntas, respuestas y comentarios del público

Dos comentarios, más relacionados con el ámbito médico. El primero se relaciona con la legislación: la ley en algunos países establece que los “anti vaxxers” (personas que están en contra de las vacunas) no pueden mandar a sus hijos a escuelas a menos que estén vacunados. Este es un gran ejemplo. El poder del gobierno, al exigir que el hijo esté vacunado es de suma importancia. Las agencias regulatorias han anunciado “esto es seguro”, estipulan que no hay preocupaciones y no es necesario explicar que se han revisado los productos minuciosamente. No hay agencias regulatorias que defiendan de esa forma a las nuevas tecnologías.

Segundo, el acercamiento de Hollywood. En California existe un instituto “California Institute for Regenerative Medicine” para investigación médica y de células madre, fundado principalmente por los votantes de California con 3 billones de dólares porque consiguieron que actores de Hollywood explicasen los beneficios de células madre. Se podrían utilizar figuras públicas para mostrar de igual manera que NBT es una buena solución.

El gobierno de ese tiempo expresó que no financiaría investigación de embriones humanos. Los votantes de California decidieron conseguir el financiamiento antes explicado. Sería algo muy positivo que Hollywood creara una película sobre tecnología CRISPR mostrándolo como algo fantástico, pero es muy probable que muestren algo negativo, lo cual no ayudaría a la tecnología CRISPR.

Basado en su experiencia, ¿cuál es su percepción sobre el futuro de OGM, NBT y mutagénesis tradicional? ¿Cree que existirán cambios importantes para las Américas a corto y mediano plazo?

El progreso ha sido muy lento para OGM, inicialmente se lanzó al

mercado soya, canola, maíz y algodón. Salieron a Norte América, Sudamérica, Sudáfrica, India y otros países muy rápidamente hasta que la oposición se organizó. Desde eso, no ha existido otro cultivo grande como trigo o arroz que logre esparcirse así. Sin embargo, el arroz dorado podría hacerlo, y cambiar el juego, pero no es probable en este punto. En cultivos menores son procesos muy lentos que necesitan más de una década en establecerse. Para NBT, organizaciones grandes a nivel mundial como American Seed Trade Association, Biotech Industry, Europa Bio, han trabajado con agencias importantes como para convencer que NBT no son OGM. Ha habido éxitos con eso, pero también fracasos. Durante los siguientes 10 o 20 años existirán productos que avancen gradualmente, pero con aceptación sin miedo por parte de los consumidores por los beneficios que estos otorgan. En la sociedad médica no existe mayor preocupación por el uso de OGM, CRISPR y otras técnicas, a menos de que se interfiriera con el genoma humano, lo que causaría preocupaciones éticas, pero esta gran aceptación en la comunidad médica debería suceder también en la agricultura.

Basado en el ejemplo de la película Rampage que salió el 2018, por cada \$1 que ponen los investigadores para explicar que los OGM no son malos, la competencia pone probablemente \$1'000,000 para que las personas no consuman OGM. Respecto a esto, para poder tener una campaña igual de poderosa que la competencia, ¿quién cree que tendría que asumir este gasto para una campaña mediática para que los transgénicos sean aceptados y adoptados por el público?

Existen muchos profesionales trabajando en comunicación de OGM, y a pesar de toda la comunicación que se ha hecho, la forma de pensar de las personas frente a OGM y talvez NBT no ha cambiado. Las redes sociales están llenas de páginas web que atemorizan a los consumidores de comer cualquier cosa que no sea orgánico. Los oponentes juegan este juego infinito donde no importa qué es verdad, no importa el efecto en el ambiente, no importa lo que hayan determinado las agencias regulatorias, y es por esto que han estado ganando. ¿Seguirán ganando? Se debe tener un producto que diga OGM o CRISPR y que sea irresistible para el consumidor, tan atractivo que el consumidor lo pruebe y descubra que es algo bueno y que no existe razón para oponerse a estas nuevas tecnologías. Los investigadores deben encontrar este aspecto clave para encontrar la aceptación a los productos por parte de los consumidores.

En Ecuador hay que poner una etiqueta si un producto posee un 0,9% de transgénico. Sin embargo, la gente aún consume estos productos a pesar de la etiqueta. ¿Cree que es importante que los consumidores sepan que van a consumir OGM o no?

La mayoría de consumidores compra de acuerdo al precio. Si el precio de un producto con ingrediente OGM es menor, es probable que lo

comprende. Ocasionalmente, estas etiquetas son ignoradas por los consumidores. En Ecuador probablemente muchas veces los consumidores no saben qué significa, no necesitan que se les explique o comunique sobre estos temas siempre y cuando exista confianza sobre las acciones de las agencias regulatorias del país. Muchas de las compañías que trabajaban en OGM se han retirado del juego por rechazo de los consumidores y por regulaciones que consumen tiempo y recursos.

¿Podría comentar de dónde vienen las motivaciones y el financiamiento de las campañas anti OGM? ¿Cree usted que exista una jugada en el juego infinito para hablar sobre beneficios?

En los años 90, tomé unas vacaciones de la industria y fui un extensionista de Biotecnología de la Universidad Estatal de Iowa. Trabajé con una empresa Genetic ID que estaba muy apegada a la meditación trascendental y era una filosofía que guiaba a la compañía. Desarrollaban los primeros métodos de detección y era la época donde la información se mantenía confidencial dentro de las compañías, y fueron de los primeros patrocinadores de las campañas anti OGM, pero también la industria orgánica se ha beneficiado enormemente del temor a los OGM. En la industria de comida no hacen diferencia mientras se venda la comida, pero la industria orgánica posee una razón filosófica para apoyar a los cultivos orgánicos, pero no existe una conspiración en sí. Únicamente existen muchos jugadores jugando a la vez. Ahora, comunicar lo que se realiza en las compañías no ha ayudado con la publicidad de OGM, por lo que se regresó a “hacer un producto que las personas deseen”.

Una preocupación adicional en el Ecuador está asociada a biodiversidad de cultivos. Se cree que se puede perder esta diversidad con los OGM y sería un problema para el país. Por otro lado, los pequeños agricultores no tendrían acceso a semillas de estas plantas genéticamente modificadas y existirían problemas.

Los pequeños productores en otros países se han beneficiado de OGM, en Sudáfrica con el maíz, en India con algodón, la mayor parte de usuarios de semillas OGM son pequeños productores, los cuales tienen disponibilidad de la semilla y ha funcionado muy bien. Con respecto a la pregunta de biodiversidad: sí se pierde biodiversidad debido a que pocos cultivos transgénicos ocupan una gran cantidad del terreno agrícola pero también puede usarse esta tecnología para expandir diversidad. Pueden usarse NBT y OGM para incrementar diversidad entre cultivos. Con NBT se están copiando mutaciones que ocurrían naturalmente o mediante radiación. Una de las evaluaciones de riesgo que se realizan es cómo se han comportado este tipo de mutaciones con respecto al flujo genético, y la respuesta es que casi no han causado problemas. Si uno provoca el mismo tipo de modificación, se comportará de la misma manera. Lo que más daña la biodiversidad es

el avance de la frontera agrícola debido a cultivos de bajo rendimiento. La mejor manera de proteger la biodiversidad es la intensificación sostenible, es decir, incrementar el rendimiento en la menor área posible.

Edición de Genomas: Principios y Aplicaciones **Paúl Chavarriaga, CIAT, Colombia.**

El CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) es uno de los quince centros que existen en el mundo encargados de preservar la biodiversidad agrícola y pecuaria. Este tipo de centros salvaguardan la biodiversidad. En el CIAT existe el banco de germoplasma más grande del mundo de fréjol, con más de 60,000 accesiones. En Ecuador y Colombia se comen 5 o 6 variedades de fréjol y se mantienen guardadas las demás.

¿Qué es editar un genoma? Editar un genoma es producir cambios en el ADN, se los conoce como mutaciones heredables y estables, que finalmente no tienen secuencias de ADN foráneo. La mutación es la fuerza de la evolución, debe entenderse que la mutación no es algo malo, que ha estado presente siempre en la naturaleza. El descubridor del sistema CRISPR en bacterias fue Francisco Juan Martínez Mojica en 1993, mientras trabajaba con Archeas. Martínez Mojica mientras realizaba un estudio científico básico de tolerancia de Archeas a condiciones extremas como temperatura, salinidad, entre otros, descubrió que las bacterias tienen la capacidad de defenderse de los virus que las atacan mediante el uso del sistema CRISPR/Cas. El virus ataca a la bacteria e inserta su genoma en la bacteria, la cual guarda partes del genoma del virus en su propio genoma, convirtiéndose en una bacteria transgénica (posee genoma foráneo insertado en su genoma). Cuando la bacteria es atacada nuevamente por los virus, prende el sistema CRISPR y produce fragmentos de los genomas virales y produce moléculas de ácidos nucleicos que se acoplan a las proteínas Cas y cada proteína acoplada con el fragmento de genoma puede inactivar al virus. Este procedimiento puede transmitirse entre generaciones, como mecanismo de defensa natural y ancestral, que los humanos han aprendido a utilizar para fines específicos como delecciones, inserciones o reemplazos, para crear nueva variabilidad en los cultivos.

Dentro de la historia de CRISPR han existido hechos favorables y desfavorables, no obstante, hoy se reconoce que la edición genética posee un potencial muy grande para acelerar el mejoramiento de cultivos al ser un sistema preciso, heredable, estable y bastante seguro. CRISPR son las siglas de Clustered, Regularly Interspaced, Short, Palindromic Repeats, básicamente: el sistema inmune de bacterias y Archeas.

En 2015, la noticia de una niña de un año de edad con leucemia que recibió células T editadas genéticamente de un donante sano impactó ampliamente en el mundo de la medicina, sin embargo, también lo hizo en el público en general, convirtiéndose en muy buena publicidad para modificación genética. Estas células fueron editadas para que el cuerpo de la niña no las rechazara.

En CIAT se utiliza CRISPR/Cas9 para conseguir características que se puedan mejorar a través de edición de genoma y tengan un gran impacto en el rendimiento. Para conseguir una planta modificada genéticamente, a nivel de una célula se utiliza a una bacteria llamada *Agrobacterium*, para que transfiera información genética nueva a la célula. En laboratorio se seleccionan las células que recibieron el nuevo ADN, las plantas que se desarrollaron de dichas células serán modificadas genéticamente y editadas. En la siguiente generación se segrega la transgénesis de la edición genética, finalmente se obtiene una planta editada y no transgénica (**Fig. 3**).

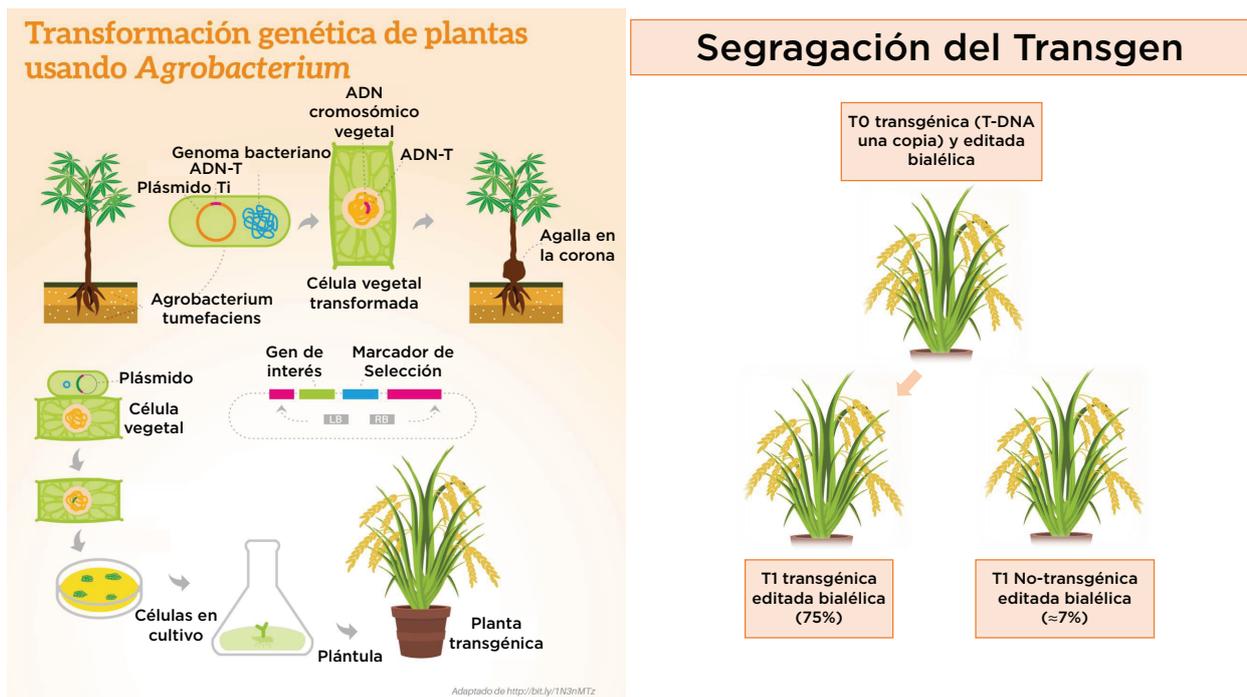


Fig. 3: Transformación genética de plantas usando *Agrobacterium* y Segregación del Transgen.
Fuente: Chavarriaga, P. (2018) "Conferencia: "Edición de Genomas: Principios y Aplicaciones" Guayaquil, Ecuador

A partir de células independientes se inserta toda la maquinaria de edición y obtener nuevamente plantas editadas genéticamente las cuales no han recibido ADN foráneo, únicamente se ha realizado una mutación del gen de interés; pero este proceso no debe considerarse OGM. En el mercado de Latinoamérica existen ejemplos exitosos de edición genética como el conocido “Maíz Waxy”, desarrollado por Pioneer, papas que no acumulan glicoalcaloides tóxicos (azúcares que no se pueden consumir), eliminar los cuernos en algunas especies bovinas, entre otros.

Edición del genoma de los cultivos del CIAT

Arroz

Las variedades de arroz con las que se trabaja en el CIAT primordialmente son japonica e indica. Existe un pipeline que es la entrada a un sistema de producción; y en esta entrada se mantiene comunicación importante con el mejorador. Las variedades se encuentran en un sistema para determinar si se puede introducir eficientemente la maquinaria de edición. Dependiendo de eso, se comunica al mejorador si una variedad puede utilizarse o no.

Previo a realizar estudios de edición genética se llevan a cabo “pruebas de concepto”, en las cuales se edita un gen que induzca un cambio notorio para demostrar el correcto funcionamiento de la técnica. En estudios de arroz en el CIAT, se utilizó el gen **DL-3 (Drooping-Leaf)** que, al ser editado, como su nombre lo explica en inglés, las hojas del arroz cuelgan, en vez de mantenerse erguidas (**Fig. 4**). La mutación inducida varía de una línea a otra; esto se realiza para determinar que la variedad funciona bien al igual que la edición.

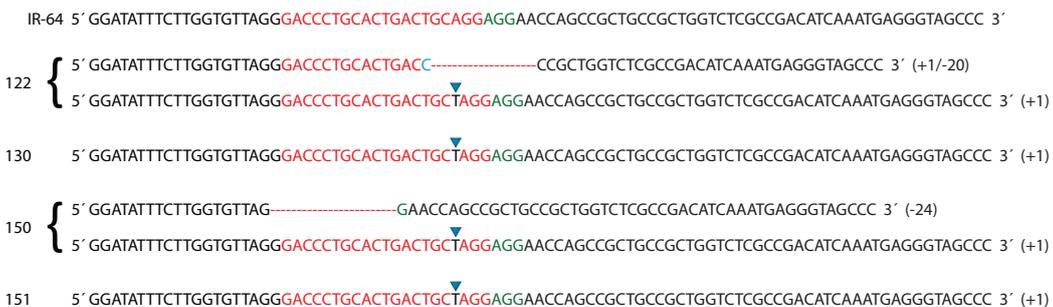
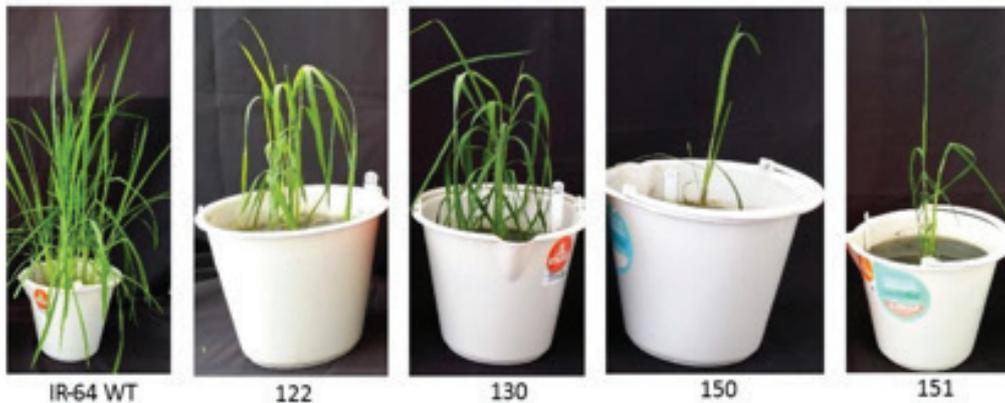


Fig. 4: Plantas de arroz con el gen DL-3 (Drooping-Leaf) editado para realizar la prueba de concepto.

Fuente: Chavarriaga, P. (2018). Conferencia: “Edición de genomas: Principios y Aplicaciones” Guayaquil, Ecuador.

El **CIAT** está trabajando en características que tengan un impacto directo en el consumidor, como es el caso de arroz enriquecido con hierro. Existe un arroz transgénico que acumula más hierro y zinc que cualquier otro tipo de arroz, a fin de suplir deficiencias de estos minerales en las personas; al igual que con el arroz dorado, se buscan desarrollar nuevas variedades que suplan deficiencias y necesidades, sean OGM o editadas. Por otro lado, existe una variedad con un gen de tolerancia a antibióticos en el arroz, no obstante, la gente tiene cierta desconfianza al escuchar que su comida posee resistencia a antibióticos, a pesar de ser completamente inocuo y que el ADN que se ingiere del arroz se descompone como cualquier otro ADN ingerido, sin causar cambios en uno. Por esta resistencia de los consumidores, se procedió a remover el gen de antibiótico para reducir el impacto negativo para los consumidores.

El arroz es susceptible a *Xanthomonas oryzae* en Asia y África, esta bacteria inyecta proteínas al momento de infectar la planta, las cuales prenden genes del arroz que causan que éste se deje infectar y que la bacteria pueda crecer y multiplicarse dentro del arroz. Estos genes de susceptibilidad se encuentran dentro del genoma del arroz y la bacteria actúa sobre la parte reguladora del gen, sin embargo, una vez editado el gen en la planta la bacteria no lo afecta. Se busca replicar este estudio (**financiado por Bill & Melinda Gates Foundation**) en conjunto con otras universidades, en variedades de arroz de interés para Asia y África.

Otro aspecto que se está trabajando en arroz es el número de granos que produce una planta. Es interesante notar que el rendimiento del arroz puede incrementar hasta en un 20% mediante edición de un solo gen, lo cual no posee un impacto directo en el consumidor, impacta al agricultor y al precio del arroz, el cual si afecta al consumidor. En el CIAT se está replicando esto, y el estudio se encuentra en el proceso de análisis para comparar plantas editadas con sus controles.

Otro estudio se enfoca en el virus de la hoja blanca en arroz, el problema más importante de rendimiento en Latinoamérica. El gen que da resistencia es conocido y se localiza en una zona del genoma donde se encuentran muchos otros genes. Este gen se denomina **Ago4** y para validarlo se lo editó en varias plantas resistentes, las cuales se volvieron susceptibles.

De igual forma se ha trabajado en esterilidad masculina para desarrollo de semillas híbridas, para lo cual se ha mutado el gen **TDF**, encargado de la producción de polen viable en la antera, y al mutarlo es completamente estéril, lo cual abre las puertas para desarrollo de plantas masculinas o femeninas.

Yuca

La yuca es de propagación clonal, por lo cual se complica su mejoramiento sexual. Mediante edición genética se han probado conceptos al producir plantas con el gen de síntesis de clorofila editado, el cual al ser mutado las hojas no sintetizan clorofila.

En yuca se está trabajando actualmente con resistencia a herbicidas. Esta resistencia es importante en África y Latinoamérica porque los indígenas gastan mucho tiempo deshierbando para obtener un mejor rendimiento. Al editar el genoma, se puede contribuir a resolver un problema social: el tiempo que estas personas gastan para tener una producción. Por otro lado, en agricultura extensiva de yuca, el no tener resistencia a herbicidas es un problema puesto que existe una gran pérdida de la capa vegetal con las lluvias debido a que se remueve el suelo para deshierbar. Para esto se han desarrollado sistemas en células individuales, llamadas protoplastos, en las cuales se inserta toda la maquinaria de edición y se obtienen plantas que pueden ser editadas o no.

Fréjol

Con respecto al fréjol, se está trabajando con su composición nutricional. Existen personas que no pueden consumir fréjol debido a que causa reacciones gaseosas y molestias estomacales. Esto se debe a cierto tipo de azúcares que podrían ser eliminados sin afectar el valor nutricional del fréjol. Se está estableciendo el sistema para realizar la edición de los genes de interés (Estaquiosa sintasa y Rafinosa sintasa), el cual busca eliminar la expresión genética para una mejor digestión del fréjol.

Regulación (ejemplo en Colombia)

La edición genómica puede generar muchos avances en agricultura, mediante el mejoramiento genético. Con cursos para Latinoamérica con el apoyo del IICA y Pioneer. Se busca concientizar y mostrar a las personas los beneficios de esta tecnología y por qué debe ser democrática.

Síntesis de preguntas, respuestas y comentarios

¿Qué tipo de herbicida va a utilizar para desarrollar yuca con resistencia a herbicida?

Inhibidores de síntesis de acetolactate, también llamado AHAS como opción principal, aunque existen varias opciones. Existen genes dentro de la planta que son el blanco de algunos químicos, por lo que se editan estos genes para volver a la planta tolerante a ese químico específico. Podría pensarse en glifosato, pero es complejo y se lo haría mediante transgénesis. Muchas veces no se logra la resistencia a los herbicidas porque el gen que existe no se expresa lo suficiente, mas puede lograrse

con edición de promotores.

¿Se trataría de una edición poligénica?

En Arabidopsis, un solo gen puede conferir resistencia a más de un tipo de herbicida. Son resultados obtenidos en plantas modelo que deberían ser validados en otras especies.

En el caso de material ya editado en el CIAT, ¿Se planea que este sea comercializado o cultivado en Colombia? ¿Cuál sería el marco regulatorio? ¿Creen que se denomine a los productos de edición genética transgénicos?

El CIAT ha sido apoyo a los agentes de regulación. Lo más importante de la regulación es que no deje por fuera los esfuerzos nacionales. Lo que se espera de la regulación es que esta establezca que, si el producto no tiene ADN foráneo, independientemente de cómo se hizo, sea regulado como convencional. En teoría, en Colombia no debería ser tan difícil llevar un producto al final.

En el caso de OGM, híbridos o variedades que poseen eventos deben pagar una patente. ¿Deben los CRISPR también pagar una patente? Los OGM fueron financiados por multinacionales, ¿cómo se financiarían los NBT?

Existen ejemplos en Latinoamérica de esfuerzos locales de universidades que han trabajado en el desarrollo de OGM. Los trabajos con transgénesis o con edición de genoma no necesariamente están financiados por grandes empresas, esa no es la regla, es la excepción. Existen muchos a pequeña escala que busca trabajar en otros cultivos, que conocen los genes y pueden trabajarlos. Con respecto a las patentes, las NBT seguro tienen que pagar patente al igual, todo desarrollo de ciencia busca reconocimiento. El problema no son las patentes, el problema es cuando se sobre regula.

Para realizar las modificaciones de CRISPR se necesita la información de secuenciamiento, ¿existen programas para secuenciar las variedades muy biodiversas como el arroz, la yuca, el cacao, el tomate de árbol?

La regulación colombiana exige que se demuestre que no existieron off-targets, y para demostrar eso debe estar secuenciado el genoma. Con respecto a arroz, soya, maíz e incluso cacao o yuca existen genomas ya secuenciados, públicamente disponibles. Pero en cultivos como naranjilla, entre otros, ese genoma no se encuentra secuenciado aún. Las dos cuestiones más importantes para avanzar con edición de genoma en agricultura son: información del genoma y poseer el genoma in vitro.

En el caso del arroz, para iniciar el programa de edición genética, ¿cuál fue el costo económico?

Un kit de CRISPR vale \$1,500 aproximadamente. Pero primero se debe tener el laboratorio, el cual incrementa el costo. También la inversión en educación es otro costo importante, al igual que los sueldos de las personas que trabajan en el laboratorio. No es algo barato, a menos de que ya se cuente con una infraestructura, lo cual es bueno puesto que impone restricciones para que se utilice la tecnología de forma segura.

Usos Potenciales de CRISPR y otras NBT en Mejoramiento Genético de Cacao

Mark Gultinan y Siela Maximova, Penn State University, Estados Unidos.

La universidad de Penn State es una universidad "Land-Grant", situada en el estado de Pennsylvania, EE.UU. Su misión es investigar, educar, realizar extensión y compartir conocimiento con todo el mundo. ¿Por qué en Pensilvania se estudia el cacao? El estado de Pensilvania es el principal estado productor de chocolate de los EE.UU., donde se encuentran grandes empresas chocolateras.

Red de Investigación en Cacao y Chocolate (PSU-CCRN)

Dentro de Penn State se encuentra la Red de Investigación en **Cacao y Chocolate (PSU-CCRN por sus siglas en inglés)**, la cual es una facultad de considerable tamaño, y con una amplia variedad de especialistas como economistas, sociólogos, historiadores, biólogos, ciencias alimenticias, entre otros. Las principales áreas de investigación de biología molecular en Penn State son:

1) secuenciación del genoma del cacao, 2) mecanismos de resistencia a enfermedades en cacao, 3) secuenciación del genoma de los patógenos del cacao, 4) (interacciones microbianas, incluyendo hongos y bacterias), **perfiles metabolómicos, 5) genética del sabor** (síntesis de ácidos grasos, formación, almacenamiento y transmisión de lípidos, componentes fenólicos), **6) biología del cadmio** (se conoce poco de la biología del cadmio dentro del cacao, se busca conocer cómo se transmite y se almacena dentro del cacao), desarrollo de herramientas moleculares para edición molecular y genética y métodos de propagación clonal (para crear, probar y entregar a los productores nuevas variedades de cacao).

En el pasado se ha trabajado en pruebas de campo de embriogénesis somática en Quevedo, INIAP, Ecuador con variedad nacional (**Fig. 5**). Uno de los objetivos a largo plazo en Ecuador es estudiar el efecto de embriogénesis y su potencial para propagación de variedades de alta calidad.



Fig. 5: Pruebas de campo de Embriogénesis Somática. Quevedo, Ecuador.

Fuente: Gultinan, M. & Maximova, S. (2018). Conferencia: "Usos potenciales de CRISPR y otras NBT en mejoramiento genético de cacao". Guayaquil, Ecuador.

Actualmente en América del Sur se lleva a cabo proyectos de educación, extensión e investigación como Cacao por la Paz en Colombia, el Centro de Innovación del Cacao y la investigación para “Evaluación de cadmio en suelos tejidos de cacao y fertilizantes” en Perú, Genómica de la Respuesta de Defensa con Costa Rica y un proyecto nuevo con el Fondo de Preservación de Herencia para realizar un programa para experimentar y preservar variedades criollas para el futuro, para preservación de biodiversidad y creación de nuevas variedades.

Sector del cacao: Mercados globales y amenazas

La realidad del cacao es que la producción promedio mundial se encuentra estable. El cacao tiene potencial para producir más de 4 toneladas por hectárea; sin embargo, en Ecuador en la mayoría de los casos, se produce menos del promedio. La investigación puede ayudar a incrementar el rendimiento, pero se debe determinar la causa de esto. El rendimiento es un rasgo muy complejo y no depende únicamente de un factor; es determinado por resistencia a enfermedades, potencial, respuesta de las plantas al ambiente, factores agrícolas, entre otros. A pesar de toda la investigación que se ha realizado, el rendimiento aun es bajo. Simultáneamente, la demanda continúa creciendo y se ha podido satisfacer esa demanda por expansión (crecimiento de cacao en nuevas áreas), pero se deben crear nuevas formas para satisfacer la demanda sin expansión de terreno.

Aplicaciones potenciales de CRISPR para cacao

Las NBT en cultivos de árboles es muy distinto de cómo lo hace en otros cultivos de ciclo corto, como la soya. El cultivo de soya posee un tiempo de generación de 4 a 6 años, lo que influye en cómo se planea un programa de investigación. El camino tradicional para mejoramiento es: colecta germoplasma, se realiza el mejoramiento, se prueba en campo y pasa a las granjas. En el cacao este proceso puede tomar de 20 a 30 años, lo que se pretende es acelerar este proceso. Una forma de lograrlo es mediante genómica a mapeo de características (utilizar marcadores para acelerar el proceso) o desde la genómica hacia transformación genética o edición genética, para llevar a pruebas de campo y finalmente pasa a las granjas. Al utilizar una combinación de marcadores moleculares junto con el crecimiento de plantas con florecimiento acelerado (mediante tratamientos hormonales u otros métodos), se puede acelerar el programa de mejoramiento, de igual manera, la embriogénesis somática también puede acelerar este programa. Se busca combinar CRISPR, marcadores moleculares y sistemas de propagación para reducir el tiempo en el mejoramiento genético del cacao.

Existen características de producción de interés en cacao como la resistencia a enfermedades, se conoce que se pierde entre 30% y 40% del cultivo por enfermedades y se está investigando diversidad de genes R (genes de resistencia) mediante un enfoque de secuenciación de genomas de cacao. Otro rasgo de interés son los metabolitos del cacao. Muchos de los metabolitos actúan como mecanismo de defensa, y es posible utilizar CRISPR para cambiar la concentración de metabolitos para intensificar la resistencia a enfermedades. En el mismo sentido, se busca trabajar en el estrés abiótico al cual se somete el cacao y desarrollar resistencia a sequía o tolerancia a inundaciones. Dentro de las características agronómicas se encuentra el florecimiento temprano, enanismo y autocompatibilidad, el enanismo en el cacao se considera como un “**santo grial**”.

Análogamente, con respecto a las características de calidad, se encuentran características de las cuales los consumidores pueden beneficiarse directamente. Se busca trabajar en sabor (taninos y terpenos). Al mismo tiempo se trabaja en características para la salud del consumidor, como reducción de ácidos grasos, de acrilamida (acrilamida en cacao se forma al igual que en papas) y metales pesados, e incremento de flavonoides específicos. Algunos flavonoides poseen potenciales beneficios para la salud humana como reducción de presión sanguínea, actividad antioxidante contra cáncer. Recientemente se descubrió en la literatura que la clovamida, una molécula del chocolate, posee actividad anti-Parkinson, a pesar de que esta se encuentra en pequeñas cantidades, se busca mediante mejoramiento genético incrementar su concentración con fines médicos. También existen rasgos de funcionalidad como la calidad de la manteca de cacao, muy importante para la manufactura de chocolate, además de su uso en cosméticos y en la empresa farmacéutica.

La calidad del producto (chocolate) es determinada por diferentes vías metabólicas desde la formación y desarrollo de la semilla, seguido por la fermentación, secado y almacenamiento de los granos de cacao para finalmente fabricar el chocolate.

Se han estudiado más de 600 genes para resistencia a enfermedades del cacao; se cree que existen cerca de 2000 genes involucrados en el sistema de respuesta de defensa del cacao. Se deben entender, determinar y encontrar la importancia de esos genes y su utilidad para mejoradores y productores. De igual manera, para lípidos, flavonoides y terpeno existen entre 50 y 100 genes en cada vía metabólica. Muchos de esos genes se encuentran en familias multigénicas con patrones complejos de expresión con diferencias en sus secuencias, y es importante entenderlos bien antes de realizar ingeniería para estos rasgos.

Los flavonoides poseen vías de biosíntesis extremadamente complejas, su biosíntesis inicia desde la vía **Shikimate**, ingresando a la vía del flavonoide hacia los polifenoles (taninos, los compuestos realmente amargos del chocolate) y existen numerosos pasos intermedios que contienen isómeros de las moléculas, dando como resultado cientos de moléculas en esta vía. Algunas de estas moléculas poseen características relacionadas a sabor, otras relacionadas a salud. Se lo puede considerar como un sistema de plomería, donde se puede cortar una tubería y cambiar la dirección en la que fluye todo o acelerar el flujo. Es posible cambiar la concentración de todos estos factores de forma racional; de igual manera, existen vías de biosíntesis de terpeno. Los terpenos dan mucho de los aromas y sabores del cacao, y esto es importante para empresas, pero también para productores. Productores que planten cacao con características **gourmet** y especiales pueden vender su cacao en un precio **premium**. De igual forma, es posible regular algunas vías para crear cacaos “de diseñador” con sabores “de diseñador”. Estas son ideas y sueños que se planean lograr a futuro con el estudio del cacao.

Estado actual de la aplicación de CRISPR en cacao

El sistema de defensa de las plantas de cacao es sumamente interesante, debido a que está relacionado en parte con el sistema inmune humano. Las plantas no poseen anticuerpos, a diferencia de los humanos, pero poseen un gen **NPR1 (regulador maestro del sistema inmune de la planta)** relacionado con **NFκB**, un regulador importante del sistema inmune humano. Esta es una vía antigua e importante en todos los organismos.

Para simplificarlo: Al aproximarse un patógeno, la planta percibe esta presencia (como un sistema de radar) y cuando una molécula del patógeno toca este radar, dispara este proceso de la planta para enfrentar y derrotar al patógeno. Primero, a nivel local se desarrolla la respuesta hipersensitiva: las primeras células al sentir este patógeno se suicidan para crear una lesión donde el patógeno no pueda crecer; al mismo tiempo, envían señales por toda la planta, para que toda la planta dispare el sistema inmune, también pueden emitir señales gaseosas que se transportan hacia otras plantas como advertencia sobre el patógeno que se encuentra próximo. La respuesta a esto es muy compleja: las paredes celulares se engrosan y/o lignifican, se sintetizan péptidos, proteínas y metabolitos antimicrobianos para impedir el paso del patógeno, producen especies reactivas al oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) y pueden crear una señal a una cascada transcripcional activando genes de defensa (2000 genes).

NPR1: Conocido como el regulador maestro de la defensa de la planta. Cuando el patógeno es percibido, se lleva a cabo una cascada de

señales que activa de mil a dos mil genes (estudiado en Arabidopsis) y crean la respuesta antes mencionada. NPR1 es un gen activador.

NPR3: También se relaciona con la cascada de señales. NPR3 es un represor de NPR1, bloquea su expresión como respuesta de defensa, utilizado para regular la respuesta de defensa, para controlar el uso de energía. De forma similar, cuando el cuerpo humano crea una reacción de fiebre, también posee un mecanismo regulador de la misma. Es como un interruptor. NPR3 se une a NPR1 y forma un complejo, este se modifica y va por una vía de degradación, disminuyendo la concentración de NPR1 apagando la respuesta de defensa de la planta.

El proyecto piloto para el uso de CRISPR con cacao buscó eliminar a NPR3 con CRISPR. La hipótesis fue que al destruir NPR3, se removería el represor de NPR1, se eliminaría la vía de degradación y básicamente se mantendría activado el sistema de defensa de la planta. No existiría una forma de apagar el interruptor, similar a un humano que se mantenga con fiebre todo el tiempo. Cuando se probó la hipótesis se recolectaron hojas de cacao, se seccionaron esas hojas, se seccionaron en fragmentos pequeños y se dividieron en hojas control y hojas tratamiento. El tratamiento consistió en células de *Agrobacterium* conteniendo un plásmido con vectores de CRISPR/Cas9 dirigido a NPR3. Se introdujeron las células de *Agrobacterium* en las células de las hojas utilizando un vacío, existió un nivel muy alto de expresión en las células que demoró 3 días. Mediante fluorescencia se observaron las células infectadas con *Agrobacterium* (se coloca un gen de fluorescencia GFP ligado al gen CRISPR); se extrajo ADN y se verificó que Cas9 había removido un fragmento del gen NPR3, luego se aisló ese ADN y se lo clonó y secuenció en 20 colonias para observar el locus del NPR3 de esos tejidos y se verificó que existió la eliminación de 973 pares de bases nitrogenadas. De 40 clones secuenciados, únicamente uno no tuvo una escisión precisa.

Conociendo que esos clones no poseían ya cierto fragmento del gen NPR3, se buscó determinar cómo esto afectaba a la resistencia de enfermedades; para esto, se realizó un ensayo que consistió en tomar una hoja, se la colocó en una placa de Petri y se pusieron 3 gotas de patógeno en un lado de la hoja y 3 gotas de agua en el otro lado como control. Se dejó crecer al patógeno por 3 días y se midió el tamaño de la lesión, la cantidad de patógenos dentro de la lesión y la expresión génica de las células alrededor de la lesión. En conclusión, la edición del gen de NPR3 incrementó la resistencia a patógenos (**Fig. 6**). Apagar un represor incrementó la defensa de la planta, existió menor concentración de patógenos dentro de las lesiones. Luego, se midió la expresión de genes a partir de NPR1. Se demostró que al seccionar el gen NPR3 se incrementó la resistencia a un patógeno y resultó en expresión incrementada de muchos de esos genes de respuesta. El día

19 de agosto de 2018 se creó la primera planta de cacao editada con CRISPR del mundo.

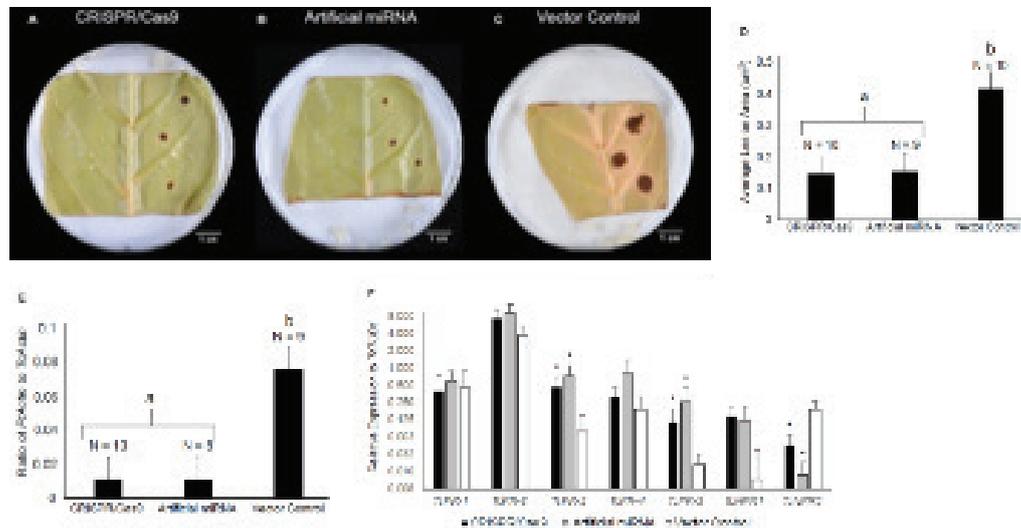


Fig. 6: Edición de *NPR3* INCREMENTA la Resistencia enfermedad y expresión de genes *PR* específicos

Fuente: Fister et al., 2018, *Front. In Plant Sci.* Citado por Gultinan, M. (2018) "Usos Potenciales de CRISPR y otras NBT en Mejoramiento Genético de Cacao". Guayaquil, Ecuador.

En resumen, el cacao es una planta importante para trabajar porque existe un mercado grande detrás de ella. El mercado continúa creciendo y es una opción para agricultores, incluso pequeños productores en países en vías de desarrollo, ayuda a proteger el ambiente, se está utilizando actualmente como un sustituto de cultivo para los productores de coca y otra gente. Se está progresando de forma positiva con NBT, existe trabajo por delante, para desarrollar estas tecnologías, para volverlas más aplicables. No obstante, la clave es educar a las personas, conversar sobre estas plantas de forma que exista aceptación del público y no sobre regulación.

Síntesis de preguntas, respuestas y comentarios del público

Con las plantas que han desarrollado, han creado un gran progreso en diversidad. ¿Qué piensan de la resistencia? ¿Cuántos genes interactúan en la planta que han desarrollado?

Existe una batalla constante entre plantas y patógenos. En este caso, la razón por la cual elegimos los factores de transcripción, es porque estos factores regulan muchos genes a la vez, por lo que esto es una

resistencia poligénica. El patógeno, de lo que se conoce, no ataca a NPR1, y si lo hiciera sería un súper-patógeno. Por ahora no se conoce un efector que tenga ese efecto. Se ha trabajado en genes solos y se ha confirmado cierto nivel de resistencia, pero los patógenos que superan esa resistencia son la preocupación, por lo que se trabaja a nivel regulatorio.

¿Han considerado el gasto energético de la planta al tener activados mil genes? ¿Se ha considerado trabajar en algo más específico para que no sea tan costoso energéticamente para la planta?

Se realizó este experimento en Arabidopsis y se determinó que existe una “penalización” de rendimiento por la activación de todo el sistema de defensa. Se produjeron menos semillas y más pequeñas, aproximadamente una pérdida de 10% de rendimiento. Este sistema de defensa fue desarrollado en equilibrio en la naturaleza, luego se crean cultivos extensivos y se alteran los patógenos, causando hasta 40% de pérdida. Lo que se debe elegir es pérdida del 10% de rendimiento o pérdida de hasta el 40% del cultivo por patógenos.

4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Al taller asistieron alrededor de ciento cincuenta personas de diversas instituciones relacionadas con agricultura. Expositores, investigadores de gran renombre, impartieron conocimientos sobre nuevas técnicas disponibles para el mejoramiento genético. Asimismo, se abrió paso a un diálogo enriquecedor sobre la creación de un marco regulatorio en el Ecuador para permitir el avance de estas tecnologías y sus beneficios tanto para centros de investigación, como para universidades, institutos, empresa privada e incluso los propios productores, incluyendo a pequeños y medianos productores, beneficiando finalmente a los consumidores y al país.

Para INIAP, las NBT son una oportunidad para el fitomejoramiento que podría disminuir tiempos y dar soluciones al agricultor respecto a problemas, como son: salinidad, heladas, patógenos, entre otros, que causan una disminución de la producción de agricultores. Desde 1959 se han entregado variedades desarrolladas con mejoramiento convencional, pero es necesario crear nuevas variedades para el consumidor, hacer que el cultivo sea más eficiente, disminuyendo el tiempo de obtención. Algunos cultivos toman entre 8 a 20 años para mejorar un cultivo, con riesgo de cambios en el mercado; sin embargo se reconoce la importancia de trabajar en un marco regulatorio.

Al concluir el evento se determinó que universidades, institutos de investigación privados y públicos y empresas desean utilizar estas tecnologías. De igual manera, el panorama se considera favorable para el Ecuador, puesto que se cuenta con conocimiento y capacidades iniciales para utilizar las nuevas tecnologías disponibles. A pesar de que la normativa ecuatoriana prohíbe la utilización de transgénicos, los elementos obtenidos mediante NBT pueden ser considerados excepciones y no ser regulados de la misma manera que los transgénicos. Una observación común expresada durante el evento fue la necesidad de la creación de más espacios como el desarrollado durante el Taller de Nuevas Alternativas para Fitomejoramiento, donde participen distintos actores de la sociedad científica y exista colaboración y apoyo para el desarrollo del país en el sector agrícola y científico.

5. BIBLIOGRAFÍA

Chavarriaga, P. (4 de septiembre de 2018). Edición de Genomas: Principios y Aplicaciones. Guayaquil, Guayas, Ecuador.

Guiltinan, M., & Maximova, S. (4 de septiembre de 2018). Usos Potenciales de CRISPR y otras NBT en Mejoramiento Genético de Cacao. Guayaquil, Guayas, Ecuador.

JRC; IPTS; IHCS. (2012). New plant breeding techniques. State-of-the-art and prospects for commercial development. . Luxembourg: European Union.

Lusser, M., Parisi, C., Plan, D., & Rodríguez-Cerezo, E. (2011). New Plant Breeding Techniques: State of the Art and Prospects for Commercial Development. JRC Reference Reports, 17-23.

Naranjo, M. (2017). INIAP - La investigación agropecuaria: trascendencia, implicaciones y desafíos. Quito: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.

NBT Platform Secretariat. (2015). New Breeding Techniques for Plants. Recuperado el 21 de junio de 2018, de Fact Sheet New Breeding Techniques: seizing the opportunity: <http://www.nbtplatform.org/background-documents/factsheets/fact-sheet-on-nbts-in-general-2015.pdf>

New Techniques Working Group. (2011). New Techniques Working Group Final Report. . Brussels: New Techniques Working Group/European Commission.

Parrott, W. (4 de septiembre de 2018). ¿Son las biotecnologías de precisión una solución para crear variedades nuevas para países en vías de desarrollo? Guayaquil, Guayas, Ecuador.

Prieto, H. (13 de junio de 2018). New Breeding Techniques (NBT's): Una nueva era en el mejoramiento de plantas. Recuperado el 21 de junio de 2018, de El Mercurio Campo: <http://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Noticias/2018/02/08/New-Breeding-Techniques-NBTs-Una-nueva-era-en-el-mejoramiento-de-plantas.aspx>

Redenbaugh, K. (4 de septiembre de 2018). Desafíos en la adopción de nuevas tecnologías de mejoramiento por productores, pequeñas compañías de semillas e institutos de investigación. Guayaquil, Guayas, Ecuador.

Tetsuya, I., & Motoko, A. (2016). A future scenario of the global landscape regarding genome-edited crops. GM Crops Food, 8(1),

44-56.

Whelan, A., & Lema, M. (2015). Regulatory framework for gene editing and other new breeding techniques (NBTs) in Argentina. *GM Crops & Food*, 253-265.

6. ANEXOS

Anexo 1. Agenda del taller

Anexo 2. Perfil profesional de los expositores

Anexo 3. Reporte fotográfico

Anexo 1: Agenda del taller “Nuevas Alternativas para Fitomejoramiento”. Guayaquil - Ecuador.

Agenda de trabajo, martes 4 de septiembre de 2018		
09:00 – 9:30	Bienvenida y apertura del evento	Juan Manuel Domínguez
	Palabras Representante IICA Ecuador	Víctor Arrúa Maidana
	Palabras de Embajador de EEUU	Todd Chapman
	Palabras Ministro de Agricultura	Xavier Lazo
09:40 – 10:40	¿Son las nuevas tecnologías (inteligencia artificial, edición precisa de genes, agricultura de precisión, entre otras) una solución para generar nuevas variedades vegetales en países en desarrollo?	Wayne Parrott
10:40 – 11:00	Receso	
11:00 – 12:00	Desafíos para la adopción de NBTs por productores / pequeñas empresas / institutos de investigación en países en desarrollo.	Keith Redenbaugh
12:00 – 13:00	Edición de Genomas: Principios y Aplicaciones	Paul Chavarriaga Aguirre
13:00 – 14:00	Almuerzo	
14:00 – 15:00	Resultados esperados del uso de CRISPR y otras NBTs en mejoramiento de cacao	Siela Maximova Mark Gultinan
15:00 – 16:00	Foro de discusión: Uso de NBTs en Ecuador	Katherine Orbe Antonio León Jennifer Fiallos Efrén Santos
16:00 – 16:30	Síntesis final y cierre de la jornada	Juan Manuel Domínguez

Anexo 2: Perfil profesional de los expositores.

Paul Chavarriaga-Aguirre



Se graduó como biólogo (especialidad en genética) por la Universidad del Valle en Cali, Colombia, en 1986. Obtuvo una maestría en artes de la Universidad de Washington (St Louis, MO), una maestría en botánica en la Universidad de Georgia (Athens, GA), y un Doctorado en Biología de la Universidad del Valle. Se unió al CIAT en 1998 y actualmente lidera la Plataforma de Mejoramiento Avanzado en la misma institución, un laboratorio compuesto por 13 científicos colombianos, dedicado a la transformación genética y edición de genomas de cultivos como la yuca, el arroz y los frijoles. También fue profesor de Biotecnología Molecular en la Pontificia Universidad Javeriana en Cali, Colombia, entre 2012 y 2017. Tiene más de 45 publicaciones entre revistas indexadas y capítulos de libros.

Mark Gultinan



Profesor en la Universidad Estatal de Pensilvania y Director del Programa de Biología Molecular de Cacao. Ha publicado más de 90 manuscritos; ha sido mentor de 20 Ph.D. académicos; ha dado experiencia práctica a más de 80 estudiantes de pregrado en investigación de plantas y ha recibido a científicos de cacao de 12 países durante programas de intercambio científico ampliado. Tiene una licenciatura en Botánica por la Universidad Estatal de California-Humboldt, y un Ph.D. de la Universidad de California-Irvine. Realizó una formación postdoctoral en la Universidad de Texas A&M, la Univ. de Carolina del Norte y ha participado en la industria, después de lo cual se unió a la Universidad Estatal de Pensilvania en 1991 como miembro del Departamento de Horticultura. Su investigación ha explorado la base molecular del desarrollo de plantas y las aplicaciones de la ciencia vegetal para la mejora de cultivos. Ha sido Director de la Fundación Penn State para la Biología Molecular de Cacao desde 1995, Presidente del Grupo Internacional para la Mejora Genética de Cacao desde 2003 y se desempeña como Director del Centro de Ciencia de Plantas del Instituto Huck de Ciencias de la Vida de Penn State. El Dr. Gultinan enseña biotecnología de plantas e investigación en ciencias vegetales a

estudiantes universitarios y graduados, y ha recibido a científicos visitantes de países productores de cacao como Nigeria, Camerún, Brasil y Malasia. El Dr. Guiltinan participó en la secuenciación del genoma del cacao, que ha revolucionado el campo de la mejora del cacao para mejorar la resistencia a las enfermedades, el rendimiento y la calidad. La investigación de los flavonoides, lípidos y otras vías metabólicas en el cacao tiene como objetivo desarrollar nuevas variedades con cualidades nutritivas de valor agregado. Su laboratorio está explorando la genética de absorción de minerales en cacao y otras especies con el objetivo de reducir la absorción y la acumulación de metales pesados indeseables como el cadmio y el aluminio en productos de plantas.

Siela Maximova



Profesora de Investigación de Biotecnología Vegetal en el Departamento de Ciencias Vegetales de la Universidad Estatal de Pensilvania. Ella ha completado su Ph.D. en Fisiología Vegetal en la Universidad Estatal de Pensilvania y una licenciatura en Ingeniería Agrícola en la Universidad de Agricultura, Plovdiv, Bulgaria. Actualmente es codirectora del Programa Endowed para Biología

Molecular de Cacao en Penn State. Desde 1998, su investigación se ha centrado en la mejora de *Theobroma cacao* L. Realiza investigaciones en Penn State y en países productores de cacao, financiados por la industria, fundaciones privadas y agencias gubernamentales. Actualmente es directora del proyecto de Penn State para "Cacao para la Paz" en Colombia y "Centro para la Innovación del Cacao" en Perú. También ha trabajado en proyectos en Europa del Este, África Occidental y Asia / Pacífico, y ha participado y dirigido grandes equipos internacionales de investigación multidisciplinaria. Actualmente se desempeña como Coordinadora de Iniciativas de Investigación Estratégica para la Facultad de Ciencias Agrícolas en Penn State y también como coordinadora de la facultad de Ciencias Vegetales: Genética de Plantas y Biotecnología. La Dra. Maximova fue nombrada "Inaugural Henrietta H. Fore Women in Science Fellow" por CRDF Global. Sus actividades como becaria se centraron en la creación de programas para promover y fomentar la participación de las mujeres en las colaboraciones internacionales.

Wayne Parrott



Wayne Parrott recibió una licenciatura en agronomía por la Universidad de Kentucky y una maestría y doctorado en Fitomejoramiento y Genética Vegetal por la Universidad de Wisconsin-Madison. Se unió a la Universidad de Georgia en 1998, donde tiene el título de Profesor Distinguido de Investigación. Lleva a cabo investigaciones sobre desarrollo, uso y seguridad de plantas transgénicas (es decir, modificadas genéticamente) y editadas. Ha publicado alrededor de 110 artículos en publicaciones arbitradas y 14 capítulos de libros. Fue presidente electo de la sección de biotecnología de “Crop Science Society of America” y de la sección de plantas de la “Society for In Vitro Biology”, y es miembro de ambas sociedades, así como de la “American Association for the Advancement of Science – AAAS”. Ha viajado alrededor del mundo y ha asesorado a varios países sobre los requisitos para un sistema normativo funcional que garantice la seguridad de los productos GM. También se ha desempeñado en grupos de trabajo que sirvieron para desarrollar guías de mejores prácticas para la evaluación de la seguridad de alimentos y piensos modificados genéticamente. Es el secretario entrante de la Sociedad Americana de Biología Vegetal.

Keith Redenbaugh



Es Director de Asuntos Regulatorios y Director de Ciencias Analíticas y Soporte Regulador en Arcadia Biosciences, Inc., Davis, California, EE. UU. Durante sus 30 años en asuntos regulatorios para plantas modificadas genéticamente, el Dr. Redenbaugh ha obtenido aprobaciones de cultivos en Estados Unidos, Argentina, Canadá, México y el Reino Unido para una variedad de cultivos, incluyendo canola, algodón, cártamo, soja, calabaza y tomate. Antes de llegar a Arcadia, el Dr. Redenbaugh fue Director Asociado de Asuntos Regulatorios, Registro de Variedades y Contratos de Investigación en Seminis Vegetable Seeds (luego Monsanto); enlace de la industria biotecnológica en la Universidad Estatal de Iowa; Gerente de Asuntos Regulatorios en Calgene, Inc.; y Senior Research Group Leader en Plant Genetics, Inc. Recibió su Ph.D. en Genética Forestal del Colegio de Ciencias Ambientales y Forestales de la Universidad Estatal de Nueva York y completó un estudio de postdoctorado con Melvin Calvin y James Bassham en la Universidad de California, Berkeley. Ha impartido más de 150 charlas invitadas sobre ingeniería genética de plantas,

seguridad alimentaria, asuntos regulatorios, semillas artificiales, biología de células vegetales, transferencia de tecnología, propiedad intelectual y registro de variedades. Es autor de dos libros, 12 presentaciones regulatorias principales, 21 artículos indexados, 37 capítulos de libros y otras publicaciones. Tiene 8 patentes sobre semillas artificiales y encapsulación. Ha sido miembro del Consejo de Administración y Presidente y Vicepresidente del Comité de Biotecnología de la American Seed Trade Association. Fue presidente de la Fuerza de Tarea de Biotecnología de la Asociación de Semillas de California.

Anexo 3: Reporte fotográfico

Inauguración del evento



Intervención el Ministro de Agricultura y Ganadería, Ing. Xavier Lazo



**Palabras de apertura del taller a cargo de Juan Manuel Domínguez,
Director Ejecutivo del INIAP**



Palabras del Ministro de Agricultura y Ganadería, Xavier Lazo



Palabras del Representante de IICA Ecuador, Víctor Arrúa Maidana



Presentación de Wayne Parrott: “¿Son las nuevas tecnologías (inteligencia artificial, edición precisa de genes, agricultura de precisión, entre otras) una solución para generar nuevas variedades vegetales en países en desarrollo?”



Palabras del Embajador de EE.UU., Todd Chapman



Presentación de Keith Redenbaugh: “Desafíos para la adopción de NBTs por productores, pequeñas compañías de semillas e institutos de investigación”



Foro de discusión: Katerine Orbe (INIAP), Jennifer Fiallos (HILSEA), Antonio León (USFQ) y Efrén Santos (ESPOL)



Presentación de Paúl Chavarriaga: “Edición de genomas: Principios y Aplicaciones”



**Síntesis final y cierre del taller por parte del
Director Ejecutivo del INIAP, Juan Manuel Domínguez**



**Presentación de Mark Gultinan: “Usos Potenciales de CRISPR y
otras NBTs en Mejoramiento Genético de Cacao”**



Asistentes del taller “Nuevas Alternativas para Fitomejoramiento”





@agroinvestigacionecuador



@iniapecuador



@iniapecuador

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias



República
del Ecuador