



BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

CRISPR

Llega a los cultivos

Una potente herramienta de edición de genes está revolucionando la agricultura y podría transformar el debate sobre los transgénicos y la manipulación genética en general

Stephan S. Hall

Stephen S. Hall es un premiado escritor y periodista científico especializado en biomedicina. Ha colaborado con numerosos medios y es profesor adjunto de periodismo en la Universidad de Nueva York.



PUEDE QUE EL CENTENAR DE AGRICULTORES

que atestaban el salón Mendenhall Inn, en Pensilvania, no tuvieron formación sobre edición de genes, pero sí que sabían de setas. Estos productores locales cosechan unos impresionantes 500.000 kilogramos al día en promedio, lo que explica en parte el hecho de que Pensilvania domine el mercado estadounidense, que alcanza los 1200 millones de dólares anuales. Algunas de las setas que producen, sin embargo, se vuelven marrones y se pudren en las estanterías de las tiendas; si uno ha sostenido en la mano una seta viscosa y medio podrida, sabrá por qué nadie las compra. Los hongos son tan sensibles a la agresión física que incluso la cuidadosa recogida y el embalaje «a un solo toque» pueden activar una enzima que acelera su descomposición.

En un seminario sobre setas celebrado el pasado otoño, Yinong Yang subió a la tribuna para anunciar una posible solución al problema del oscurecimiento o pardeamiento. Yang, biólogo y profesor de fitopatología de la Universidad estatal de Pensilvania, había editado el genoma del champiñón común, *Agaricus bisporus*, la seta comestible más popular en el mundo occidental, mediante una nueva herramienta llamada CRISPR.

Los cultivadores de hongos de la audiencia probablemente nunca habían oído hablar de CRISPR, pero comprendieron que era algo importante cuando Yang les mostró una foto de la actriz Cameron Díaz entregando a Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier, inventoras de la técnica, el premio Breakthrough, acompañado por un cheque de 3 millones de dólares para cada una. Y entendieron las enormes implicaciones comerciales de la invención cuando Yang les enseñó fotografías en las que aparecían setas marrones y podridas al lado de otras de un blanco inmaculado obtenidas con ella. Todas correspondían a *A. bisporus*, la cepa universal que anualmente produce 400 millones de kilogramos de botón blanco, setas cremi y setas portobello. (La Universidad estatal de Pensilvania también se dio cuenta de las implicaciones comerciales; el día antes de la charla de Yang, presentó una solicitud de patente sobre el trabajo de los hongos.)

intereses económicos de miles de millones de dólares en los ámbitos de la medicina y la agricultura. La técnica ha irrumpido en la comunidad científica como un intenso tornado. Laboratorios académicos y empresas de biotecnología la están empleando para dar con tratamientos novedosos contra enfermedades como la anemia falciforme y la beta-talasemia. También ha despertado críticas porque artistas y bioempresarios han creado con ella de todo, desde conejos de pelaje púrpura hasta *souvenirs* vivos, como los cerdos miniaturizados producidos en China como mascotas. La posibilidad de utilizar CRISPR para reparar embriones o editar nuestro ADN de forma permanente (un proceso conocido como modificación de la línea germinal humana) ha provocado un debate febril acerca de la «mejora» de la especie humana, con el consiguiente llamamiento a una moratoria internacional [véase «La cumbre sobre edición genética en humanos concluye con opiniones divergentes», por Sara Reardon; INVESTIGACIÓN Y CIENCIA, febrero de 2016].

La revolución de CRISPR puede estar teniendo su efecto más profundo y menos publicitado en la agricultura. En otoño de 2015 se habían publicado unos 50 artículos científicos que informaban del uso de CRISPR para editar genes en las plantas y hay indicios de que el Departamento de Agricultura de los

En sus apenas tres años de existencia, la técnica CRISPR ya ha generado tramas más fascinantes que una novela de Dickens. Es una revolucionaria herramienta de investigación con repercusiones médicas espectaculares que ha originado problemas bioéticos espinosos y una difícil disputa sobre patentes; y sobre todo ello planean

EN SÍNTESIS

La herramienta de edición genética llamada CRISPR permite a los científicos alterar el genoma de un organismo con una precisión sin precedentes.

Confiere a las pequeñas empresas agrícolas un enorme potencial para manipular los genes, no solo a las grandes compañías agroalimentarias, ya que es fácil y barata de usar.

Sus defensores sostienen que resulta biológicamente menos perjudicial que las técnicas tradicionales de mejora practicadas durante miles de años. Los reguladores tienden a opinar lo mismo.

Los alimentos CRISPR podrían cambiar el debate sobre los productos genéticamente modificados, o tal vez se los considere la última versión de los alimentos transgénicos.

EE.UU. (USDA), uno de los organismos que evalúan los productos agrícolas modificados genéticamente, pueda considerar que no todos los cultivos obtenidos mediante edición genética exijan la misma atención reguladora que los organismos genomodificados, o transgénicos, «tradicionales». Con esa puerta aún solo ligeramente entreabierta, las empresas están compitiendo para hacer llegar cultivos editados genéticamente a los campos y, en última instancia, a los alimentos.

El aspecto transformador de CRISPR reside en su precisión sin precedentes. La técnica permite inactivar un gen o, con un poco más de esfuerzo, añadir un rasgo deseable mediante la inserción de un gen en un lugar específico del genoma. Ello la convierte, según los que la usan, en la forma menos perjudicial de mejora vegetal que los humanos hemos ideado jamás, incluido el mejoramiento «natural», practicado durante miles de años. También permite eludir, en muchos casos, el controvertido método de insertar ADN de otras especies en plantas; estos cultivos transgénicos, como el maíz y la soja de Monsanto resistentes al herbicida Roundup, despertaron especialmente la ira entre los críticos de los transgénicos y generaron entre la población desconfianza hacia la manipulación genética. Sin embargo, algunos científicos creen con optimismo que los cultivos CRISPR son tan diferentes que harán cambiar el tono del debate sobre los alimentos transgénicos. Según Daniel F. Voytas, académico y empresario científico, la nueva técnica exige que se redefina lo que es un organismo transgénico.

¿Aceptarán los consumidores los cultivos CRISPR? ¿O van a ver en ellos el último ejemplo de «alimentos Frankenstein» (*Frankenfood*), una distorsión genética de la naturaleza en la que un ADN extraño (beneficioso para la agroindustria) es introducido en una especie vegetal con consecuencias impredecibles para la salud y el ambiente? Debido a que solo ahora se está empezando a aplicar CRISPR a los cultivos alimentarios, la cuestión todavía no ha trascendido en la población general, pero lo hará pronto. Agricultores como los productores de setas de Yang serán los primeros en opinar, probablemente en uno o dos años.

Momentos después de la charla de Yang, un científico de la industria le planteó el reto fundamental que suponían los alimentos CRISPR. Convenía con Yang en que las setas mejoradas presentaban retoques mínimos en el ADN, en comparación con los transgénicos tradicionales. «Sin embargo», apuntó el científico, «se trata de una modificación genética, y algunas personas verán que es como si estuviéramos jugando a ser Dios. ¿Cómo podemos lidiar con eso?»

De cómo respondan a esta pregunta Yang y otros científicos que aplican estas técnicas de edición de genes a los cultivos alimentarios puede depender que CRISPR se convierta en una herramienta transformadora o tropiece con la oposición de la población.

PRECISIÓN, AGILIDAD Y BAJO COSTE

El signo revelador de cualquier técnica revolucionaria es la rapidez con la que los investigadores la emplean en sus trabajos. Según esta norma, CRISPR se halla entre las innovaciones más poderosas de la biología del pasado medio siglo. La seta creada mediante edición genética ofrece un ejemplo de ello.

Yang nunca trabajó con champiñones hasta 2013, pero se podría decir que fue criado para la tarea. Nacido en Huangyan,

una ciudad al sur de Shangái conocida como la capital de los cítricos de China, trasteó con algunas enzimas primitivas de edición de genes en los años noventa, como estudiante graduado en la Universidad de Florida y más tarde en la de Arkansas. Recuerda vívidamente cuando, el 17 de agosto de 2012, abrió el número de la revista *Science*; contenía un artículo del laboratorio de Doudna en la Universidad de California en Berkeley, y del de Charpentier, en la Universidad de Umeå, que describía el potencial de CRISPR para editar genes. «¡Esta es la buena!», pensó. A los pocos días, ya estaba incubando planes para mejorar rasgos en plantas de arroz y patata mediante la edición de genes. Publicó su primer artículo sobre CRISPR en verano de 2013.

No fue el único en darse cuenta. Los biólogos vegetales se subieron al carro de CRISPR en cuanto se publicó la técnica. Los científicos chinos, que la adoptaron rápidamente, conmocionaron a la comunidad agraria en 2014, cuando la emplearon para crear trigo panificable resistente a una antigua plaga, el oídio.

CRISPR representa la forma menos perjudicial de mejoramiento vegetal que los humanos hemos ideado jamás, según los que aplican esta técnica

Sin embargo, la revolución de la edición genética había comenzado antes de la llegada de CRISPR. Para personas como Voytas, CRISPR no es más que el último capítulo de una saga científica mucho más larga que está ahora dando sus frutos. Hace 15 años, cuando se hallaba en la Universidad estatal de Iowa, ya intentó por primera vez editar genes de plantas con una técnica conocida como dedos de zinc; su primera empresa de edición genética se hundió por cuestiones de patentes. En 2008 se trasladó a la Universidad de Minnesota y en 2010 patentó, con su excolaborador de la Universidad estatal de Iowa Adam Bogdanove, ahora en la Universidad Cornell, un sistema de edición genética en las plantas basado en TALEN (de las siglas en inglés «nucleasas efectoras similares a los activadores de la transcripción»). Ese mismo año, Voytas y sus colaboradores fundaron una empresa llamada ahora Calyxt. Sin el alboroto de CRISPR, los agrónomos han utilizado TALEN para obtener plantas con genes editados que ya se cultivan en los campos de América del Norte y del Sur. Calyxt, por ejemplo, ha creado dos cepas de soja modificadas para producir un aceite saludable, con niveles de ácidos grasos monoinsaturados equiparables a los de los aceites de oliva y colza. Y la empresa cuenta con una cepa de patata que no acumula ciertos azúcares durante su almacenamiento en frío, lo que reduce el sabor amargo producido por el almacenamiento, así como la cantidad de acrilamida, un carcinógeno que se origina cuando se fríen las patatas.

Debido a que estas modificaciones genéticas no implican la introducción de ningún gen extraño, el Servicio de Inspección Animal y Vegetal (APHIS) del USDA decidió el año pasado que

Distintas formas de manipular los genes

Los humanos hemos cultivado plantas desde hace miles de años, y durante todo el tiempo hemos intentado identificar e incorporar rasgos beneficiosos (rendimientos más altos, resistencia a enfermedades) en variedades de plantas ya existentes. Primero se usó el cruzamiento clásico. A principios del siglo xx los científicos aprendieron a inducir mutaciones en el ADN de plantas con la esperanza de que aparecieran al azar rasgos deseables. Hoy, las nuevas técnicas de «mejora de precisión», como CRISPR, permiten modificar genes específicos o insertar nuevos rasgos genéticos con una precisión sin precedentes. Sin embargo, todas estas técnicas alteran el ADN de las plantas, lo que hace preguntarse qué se entiende por un organismo modificado genéticamente (OMG).

Conceptos clave

Mutagénesis: Desde los años veinte los agrónomos han mutado deliberadamente el ADN de semillas de plantas con rayos X, rayos gamma o productos químicos, y luego han cultivado las plantas para ver si han adquirido rasgos beneficiosos. Si es así, las plantas mutadas pueden cruzarse con variedades existentes. Las variedades así obtenidas no son consideradas transgénicas por el Departamento de Agricultura de los EE.UU. (USDA)

Silenciado de genes: Durante la última década, los científicos han logrado desactivar genes que confieren rasgos no deseados mediante la introducción de una forma perjudicial de ARN en las células vegetales. Este ARN de interferencia (o ARNi) está diseñado para alterar una secuencia específica de ADN responsable de un rasgo indeseable. Con este método se han creado varios cultivos alimentarios, como patatas y manzanas que no pardean. El USDA no los considera OMG.

Cisgénesis: Este proceso implica la introducción de un gen específico de una especie de planta emparentada. La transferencia suele realizarse mediante un microorganismo, *Agrobacterium tumefaciens*, que infecta la planta e inserta el gen en un lugar aleatorio de su ADN. El USDA revisa las plantas cisgénicas caso por caso para determinar su situación regulatoria.

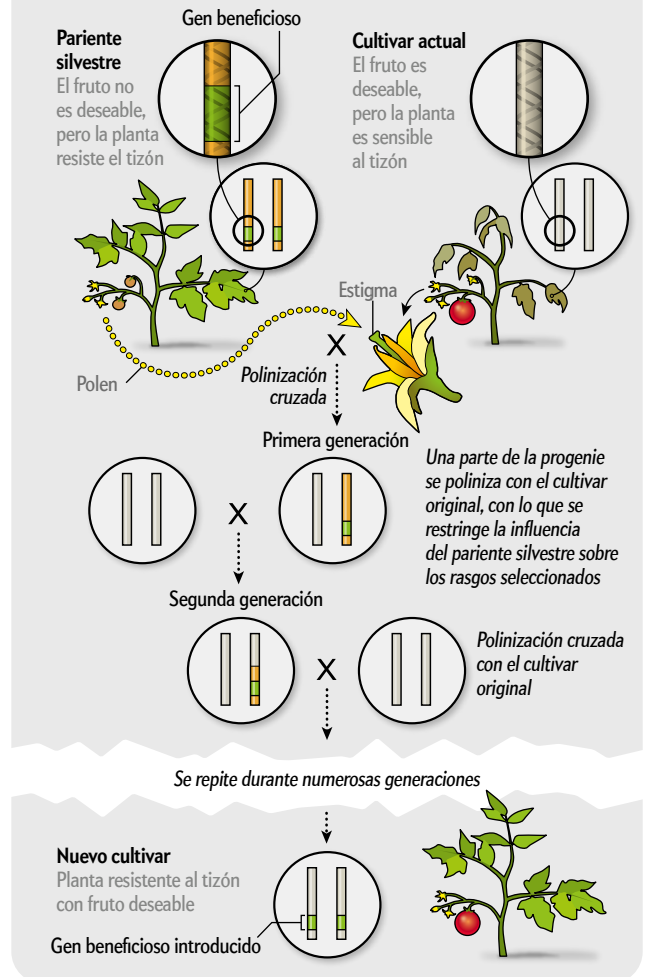
Transgénesis: La técnica implica la transferencia de ADN foráneo que codifica un rasgo deseado en una especie de planta no emparentada. Como en la cisgénesis, se utiliza la bacteria *A. tumefaciens*, que introduce el ADN extraño cuando infecta la célula vegetal. Un ejemplo de cultivo transgénico es el maíz en el que se ha insertado un gen resistente a los herbicidas. El noventa por ciento de toda la soja cultivada en EE.UU. es transgénica; el USDA considera que las plantas transgénicas son OMG.

los cultivos no requerían ser regulados como transgénicos. «El USDA ha dado el visto bueno a la plantación de una variedad de patata y dos variedades de soja, por lo que la patata y una de las variedades de soja se hallan en el campo este año», me comentó Voytas en octubre del año pasado. «Básicamente, consideraron estas plantas como si fueran normales, como si se hubieran generado mediante mutágenos químicos, rayos gamma o cualquier técnica no regulada. El hecho de que obtuviéramos la autorización y de que podamos pasar casi de inmediato del invernadero al campo es una gran ventaja. Nos permite acelerar de verdad el desarrollo de productos.»

En el ámbito pecuario, también se ha dado un salto en la edición genética. Los investigadores de Recombinetics, una pequeña empresa de biotecnología de Minnesota, han bloqueado genéticamente la señal biológica que regula el crecimiento de los cuernos en vacas Holstein, la raza más importante de la

Mejora vegetal tradicional

Consiste en la selección y fecundación cruzada después de la mutagénesis. Durante la reproducción natural, grandes segmentos de cromosomas (hasta millones de pares de bases) se introducen junto con el rasgo deseado en un cultivar domesticado. Los cruces posteriores suelen reducir la cantidad de ADN transferido, pero el inserto permanece a menudo a lo largo de cientos de miles de pares de bases y puede arrastrar consigo genes indeseables (arrastré por vinculación) en el proceso. Un análisis genómico en 2010 de *Arabidopsis* (la planta modelo por excelencia) mostró que la mejora clásica introdujo en cada generación unas siete nuevas mutaciones espontáneas por cada mil millones de pares de bases de ADN.



industria láctea. Los científicos consideran esta aplicación de la edición genética una forma más humana de ganadería, ya que evita que los machos y hembras Holstein tengan que someterse a un procedimiento espantoso en el que los ganaderos arrancan y luego cauterizan los cuernos en desarrollo (ello se lleva a cabo para proteger de lesiones tanto a los animales como a los ganaderos). Scott Fahrenkrug, gerente de la empresa, afirma que el proceso no involucra transgenes, solo la introducción de unas pocas letras del ADN para «obtener la carne que ya comemos». Científicos coreanos y chinos, por su parte, se han unido para crear un cerdo con mucha más masa muscular al inactivar un gen llamado miostatina.

La velocidad, la facilidad y el bajo coste hacen de CRISPR una técnica aún más atractiva que TALEN. «Sin lugar a dudas», Voytas apunta, «en un futuro CRISPR va a ser la herramienta de elección para edición genética vegetal». Sin embargo, la tur-

Modificación genética

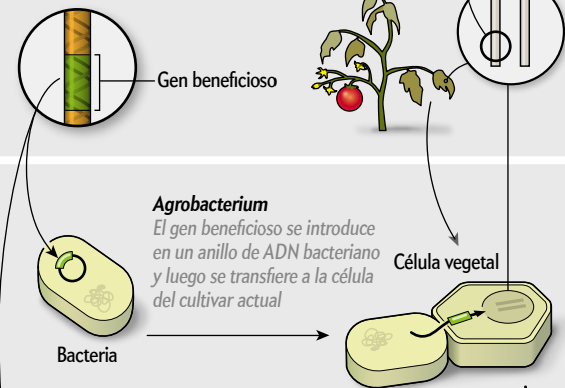
En la década de los ochenta los agrónomos crearon la primera oleada de cultivos genéticamente modificados. Mediante agentes biológicos (*Agrobacterium*) o la fuerza física (las llamadas pistolas de ADN), insertaron en las células vegetales nuevos genes. Estos podrían ser foráneos (transgénicos) o de una especie relacionada (cisgénicos).

Gen beneficioso

Puede proceder de un organismo relacionado (cruce cisgénico) o de un organismo no relacionado (cruce transgénico)

Cultivar actual

El fruto es deseable, pero la planta es sensible al tizón



Agrobacterium

El gen beneficioso se introduce en un anillo de ADN bacteriano y luego se transfiere a la célula del cultivar actual

Bacteria

Célula vegetal

Pistola de genes

En la célula del cultivar actual se inyectan partículas metálicas recubiertas con ADN

Bacteria

Célula vegetal

Las células con el ADN modificado se dividen y generan nuevas plántulas

Nuevo cultivar

Planta resistente al tizón con fruto de gran calidad

Gen beneficioso introducido

Edición genética

Con las técnicas de edición genética de precisión (dedos de zinc, TALEN y CRISPR), los biólogos pueden modificar un gen específico, bien desactivándolo, o bien sustituyéndolo por otro. El gen de sustitución puede proceder de especies no relacionadas (transgénesis) o de una variedad relacionada (cisgénesis). Aunque CRISPR puede ser dirigido a un lugar específico, la enzima acompañante Cas9 a veces realiza cortes no programados, fuera del punto de interés; algunos datos indican que los cortes erróneos resultan infrecuentes en las plantas.

Cultivar actual

El fruto es deseable, pero la planta es sensible al tizón

Gen no deseable

Herramienta CRISPR

Compuesta por una guía de ARN, que se complementa con la secuencia diana de ADN, y la proteína de corte Cas9

Célula vegetal

Guía de ARN

Proteína Cas9

La herramienta CRISPR se une a la secuencia de interés, y la enzima Cas9 corta ambas cadenas de ADN. Cuando la célula repara el doble corte, elimina o añade accidentalmente varios pares de bases en ese punto, lo cual es suficiente para inactivar (knock-out) el gen entero. Alternativamente, la misma técnica de corte dirigido puede usarse para insertar un gen nuevo que codifica un rasgo deseable, lo cual puede añadir cientos o miles de pares de bases de ADN.

Punto de corte

Las células con el ADN modificado se dividen y generan nuevas plántulas

Planta modificada

Planta resistente al tizón con fruto de gran calidad

Gen indeseable desactivado

En la situación de la patente, en la que tanto la Universidad de California como el Instituto Broad (gestionado conjuntamente por el Instituto de Tecnología de Massachusetts y la Universidad Harvard) reclaman haber inventado CRISPR, puede retrasar su desarrollo comercial en la agricultura. DuPont ha alcanzado recientemente una «alianza estratégica» con Caribou Biosciences, empresa de biotecnología asociada a la Universidad de California en Berkeley, para utilizar las aplicaciones de CRISPR en la agricultura, pero los ejecutivos de dos pequeñas empresas de biotecnología declararon a esta revista que tenían desarrollar productos mediante CRISPR mientras no se resolviera la disputa sobre su patente.

En cambio, ello no supone un obstáculo para los laboratorios académicos. La aplicación de CRISPR en las setas dio un giro decisivo en octubre de 2013, cuando un alumno de la Universidad de estatal de Pensilvania llamado David Carroll

apareció en el laboratorio de Yang. Carroll, presidente de Giorgi Mushroom, preguntó si las nuevas técnicas de edición genética podrían perfeccionarse para mejorar las setas. Alentado por la capacidad de CRISPR de crear mutaciones de alta precisión, Yang respondió: «¿Qué tipo de rasgo quieres?» Carroll sugirió el antioscurecimiento, y Yang convino de inmediato en estudiarlo.

Yang conocía exactamente el gen que debía tratar. Los biólogos habían identificado previamente una familia de seis genes, cada uno de los cuales codifica una enzima que causa el pardeamiento (la misma clase de genes que provoca este efecto en las manzanas y las patatas, ambas también sometidas a la edición genética). Cuatro de los genes responsables del oscurecimiento generan esa enzima en el cuerpo fructífero de los hongos, y Yang pensó que si lograba desactivar uno de ellos, podría retrasar el pardeamiento.

¿Cómo regulará Europa las técnicas de edición genética en la agricultura?

Un sistema legislativo rígido y que no tiene en cuenta los argumentos científicos dificulta la toma de decisiones sobre CRISPR y otros métodos de última generación

PERE PUIGDOMÈNECH

En 1983 se publicaron los primeros estudios demostrativos de la modificación genética en las plantas. Estas presentaban nuevos caracteres gracias a que incorporaban fragmentos de genes que habían sido aislados en el laboratorio. De forma casi inmediata, los principales países desarrollados del mundo, entre ellos los Estados Unidos y la Unión Europea, diseñaron procedimientos para regular el uso en el campo de las plantas que pudieran producirse mediante esas nuevas técnicas. Estados Unidos aprobó el llamado Marco Coordinado para la Reglamentación de la Biotecnología en 1984, y Europa la primera Directiva en 1990, cuatro años antes de que se llevara al campo el primer cultivo de plantas con una modificación genética. Pero nos hallamos en 2016 y Europa cuenta con un sistema regulador cada vez más rígido, a pesar de que los avances científicos van abriendo un amplio abanico de nuevas posibilidades. La consecuencia de ello es una situación paralizada que dificulta la toma de decisiones.

En Europa los mecanismos de aprobación de nuevas variedades de plantas obtenidas mediante ingeniería genética han estado en marcha desde hace tiempo, en particular desde que en el 2001 se aprobó la Directiva 2001/18 sobre la liberación deliberada en el ambiente de organismos modificados genéticamente (OMG) y, en el 2003, el Reglamento 1829/2003 sobre los alimentos basados en materiales procedentes de ellos. El análisis científico del riesgo de los OMG sobre la salud humana y animal y el entorno lo realiza el panel de exper-

tos sobre OMG de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), el cual ha ido emitiendo sus opiniones durante este tiempo. Sin embargo, la aprobación por parte de la administración europea ha estado paralizada debido a la imposibilidad de los Estados miembros en alcanzar acuerdos.

En los últimos años se han sucedido dos nuevos cambios en la normativa. Uno ha sido la aprobación de la Directiva 2015/412, que autoriza a los Estados miembros a restringir el uso de cultivos modificados genéticamente en su territorio por razones que no sean de naturaleza científica. El segundo corresponde al reglamento de ejecución de la Comisión Europea 503/2013, que dicta un procedimiento detallado de los requisitos que deben cumplirse para la aprobación de las plantas modificadas genéticamente. Se trata de cambios sustanciales respecto al proceso de autorización de estas plantas, ya que se fragmenta la decisión sobre su cultivo y se contradice el proceso de análisis caso por caso que ha estado siempre vigente en las directivas sobre el tema.

Mientras tanto, la ciencia sigue su camino. Los datos sobre genomas de plantas van en aumento y proporcionan una rica información que puede aprovecharse para la mejora de las especies cultivadas. Al mismo tiempo, aparecen metodologías y conceptos nuevos que plantean la necesidad de definir su encaje en el marco regulador existente.

La agilidad del método CRISPR deriva de la posibilidad de personalizar la herramienta para producir tales mutaciones. Como un cuchillo multiusos que combinara brújula, tijeras y sistema de sujeción, CRISPR resulta extraordinario en dos tareas: se fija en un tramo muy concreto del ADN y luego lo corta. La fijación se lleva a cabo con la ayuda de un pequeño fragmento de ácido nucleico denominado guía de ARN. Esta se complementa con la secuencia de ADN de la región de interés y se une a ella gracias a la atracción que se produce entre los pares de bases, según dieron a conocer James Watson y Francis Crick (en la que A se une a T y C a G). Si se crea una guía de ARN de 20 letras de longitud, esta hallará con la precisión de un GPS su secuencia complementaria de ADN en medio de la cadena de 30 millones de letras que componen el genoma del hongo *Agaricus*. El corte lo realiza entonces la enzima Cas9 (originariamente aislada de cultivos de bacterias en el yogur), la cual se halla en la parte posterior de la guía de ARN. (El término CRISPR/Cas9 es un nombre poco apropiado ahora, porque la sigla inglesa CRISPR significa «repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente espaciadas», que son regiones de ADN que solo presentan las bacterias. Es la proteína Cas9, con la ayuda de la guía de ARN, la que edita el ADN de plantas, hongos y humanos, a pesar de que no hay CRISPR involucradas.)

Una vez que se ha cortado el ADN en el punto deseado, se deja que la naturaleza realice el trabajo sucio de la mutación.

En el momento en que la doble hélice de ADN se corta, la célula se da cuenta de la herida y se dispone a repararla. Sin embargo, estas reparaciones no son perfectas, lo que hace precisamente de CRISPR una herramienta tan potente en la creación de mutaciones. Durante el proceso de reparación suelen perderse unas pocas letras del ADN; como la maquinaria celular de síntesis de proteínas lee el ADN en «palabras» de tres letras, la eliminación de un par de letras altera todo el texto y, en última instancia, inactiva el gen mediante lo que se conoce como un desplazamiento del marco de lectura. Eso sucedió exactamente en el champiñón modificado genéticamente. En el trabajo de Yang, una pequeña delección de ADN inactivó una de las enzimas que promueven el oscurecimiento, una mutación que Yang y sus colaboradores confirmaron con el análisis del ADN. Según Yang, un biólogo molecular experimentado podría tardar tres días en crear una herramienta de mutaciones personalizada para editar prácticamente cualquier gen de casi cualquier organismo.

Esa opinión acerca de CRISPR es compartida por la mayoría de los científicos: la técnica es rápida, barata y fácil. Bastaron unos dos meses de trabajo de laboratorio para crear el hongo que no pardea; la actitud de Yang sugiere que el trabajo fue rutinario, si no ridículamente fácil. Y también barato. El paso más difícil, preparar la guía de ARN y su sistema de sujeción, cuesta un par de cientos de dólares; hay una serie de pequeñas



Distintas instancias comunitarias y científicas han realizado este análisis y han puesto de manifiesto la necesidad de avanzar en la legislación para adaptarse a los cambios. En concreto, el panel de expertos sobre OMG de la EFSA publicó en 2013 las opiniones, basadas en el trabajo de un grupo de científicos, sobre dos innovaciones. Una de ellas corresponde a las denominadas técnicas de cisgénesis e intragénesis. Se trata de un tipo de modificación genética de plantas en la que se utilizan genes de la misma especie o de otra muy cercana y que puede aplicarse en casos en los que la mejora con métodos clásicos resulta difícil. La otra innovación corresponde a las técnicas basadas en sistemas que permiten modificar el genoma o insertar un transgén (gen de otra especie) en lugares precisos mediante lo que se conoce como nucleasas dirigidas. Este informe se realizó incluso antes del desarrollo de las actuales técnicas de edición genó-

mica basadas en el sistema CRISPR/Cas9. En los dos casos se proponía que los requisitos para la aprobación fueran menos estrictos. Al parecer, estas propuestas no debieron ser bien recibidas en la Comisión Europea, ya que el panel de expertos sobre OMG fue disuelto antes de que pudiera exponer otras cuestiones.

En esta situación, las técnicas de edición genómica plantean un dilema a las instituciones europeas. Por una parte, si la modificación genética se define en función del método que se emplea, pueden hallarse argumentos para decidir que las nuevas técnicas no son más que otro tipo de modificación genética. Ello implica que deberá someterse al actual proceso regulador, con sus rigideces y sus costos enormes. Por otra parte, algunos de estos métodos no dejan huellas en el ADN y pueden ser muy difíciles de distinguir de mutaciones espontáneas, por lo que parece poco lógico tratar las plantas y alimentos así obtenidos del mismo modo que el resto de OMG.

Los Estados miembros están divididos sobre el tema y diversas organizaciones científicas ya han alertado de los riesgos que supone para la investigación utilizar normas tan rígidas. Países como Estados Unidos y Argentina, que generan ciencia y productos vegetales, ya han comenzado a decidir que no van a regular estas modificaciones como si fueran OMG. En estas condiciones, estaba previsto que la Comisión Europea emitiera un análisis jurídico sobre la cuestión a mediados de 2015, pero su publicación va retrasándose y el último anuncio se ha hecho para fines del 2016. Un ejemplo más de la dificultad de tomar decisiones en este tema tan debatido sin tener en cuenta los argumentos científicos.

Pere Puigdomènech es profesor de investigación del CSIC y trabaja en el Centro de Investigación en Agrigenómica de Bellaterra, centro mixto del CSIC y varias instituciones públicas catalanas. Ha sido miembro del Grupo Europeo de Ética de las Ciencias y las Nuevas Tecnologías de la Unión Europea.

empresas biotecnológicas que hoy ofrecen diseñar CRISPR a la medida para editar cualquier gen deseado. El mayor coste es la mano de obra: Xiangling Shen, estudiante posdoctoral en el laboratorio de Yang, trabajó en el proyecto a tiempo parcial. «Si no se cuenta la mano de obra, es probable que cueste menos de 10.000 dólares», comenta Yang. En el mundo de la biotecnología agrícola, eso es calderilla.

Y apenas se empieza a insinuar el potencial ahorro de CRISPR en el ámbito de la reglamentación. En octubre del año pasado, Yang presentó de manera informal su trabajo sobre los hongos a los reguladores federales del APHIS, organismo que decide si un cultivo alimentario modificado genéticamente debe ser regulado por el Gobierno (en pocas palabras, si debe considerarse un transgénico); salió de la reunión convencido de que las autoridades no creían que el hongo CRISPR necesitara una revisión especial o extendida de la regulación. De ser así, ello contribuiría en su mayor parte al abaratamiento de la técnica: Voytas calcula que el proceso de revisión puede costar hasta 35 millones de dólares y durar hasta cinco años y medio.

Otra ventaja del champiñón para el estudio preliminar de la aplicación de CRISPR en la agricultura es la velocidad a la que crecen los hongos: desde las esporas hasta la madurez, las setas se forman en unas cinco semanas, y se pueden cultivar durante todo el año en instalaciones de clima controlado sin ventanas. La soja y las patatas creadas por Calyxt, por el contrario, exigen

meses de ensayos de campo, por lo que la empresa solicitó y recibió la autorización para cultivar su soja en Argentina entre finales de 2014 y principios de 2015. «Al situarnos alrededor del ecuador», comenta Voytas, «podemos obtener varias cosechas en un año». En EE.UU., Calyxt cosechó sus primeros cultivos editados genéticamente en octubre del año pasado.

Uno de los antiguos temores acerca de la modificación genética es el fantasma de las consecuencias no deseadas. En el mundo de la biotecnología alimentaria ello suele significar la formación de toxinas o alérgenos inesperados que vuelven nocivos los alimentos modificados (un riesgo que nunca se ha demostrado para un alimento transgénico), o cultivos fuera de control que causan estragos en la ecología local. La técnica CRISPR está haciendo que incluso personas como John Pecchia piensen en las consecuencias económicas no deseadas. Es uno de los dos profesores de la Universidad estatal de Pensilvania que pasa largo tiempo en un edificio de las afueras del campus, donde se ubica el único centro de EE.UU. para la investigación académica de producción de setas. En primavera de 2015, Pecchia tomó un poco de cultivo iniciador de Yang e hizo crecer el primer lote de champiñones editados genéticamente. De pie frente a una habitación donde se prepara una humeante y fétida mezcla de compost de champiñón a 80 grados centígrados, señala que un hongo con una vida útil más larga podría dar lugar a una menor demanda de las tiendas y también dar pie a una competencia

inesperada. «Se podrían abrir las fronteras a importaciones extranjeras de hongos», añade, «por lo que representa un arma de doble filo».

En el tortuoso camino de los alimentos modificados genéticamente hacia los mercados, debe superarse una paradoja más. Nadie sabe a qué saben las setas con genes editados. Han sido hervidas y cocidas al vapor, pero no para ser ingeridas. Cada seta creada hasta ahora ha sido destruida después de que Yang llevara a cabo sus pruebas para evitar el oscurecimiento. Tras finalizar el estudio demostrativo preliminar, explica Pecchia, simplemente se desecharon las setas.

MODIFICACIÓN SIN TRANSGENES

¿Rechazará también la población los alimentos editados genéticamente o les dará la bienvenida en sus cocinas y en sus platos? Esa puede ser la cuestión central en el capítulo más intrigante de la historia de los alimentos CRISPR, que coincide con un momento crítico en el tumultuoso debate que existe desde hace treinta años sobre los cultivos modificados genéticamente.

Algunas técnicas novedosas, como CRISPR, están obligando a los Gobiernos a reconsiderar la definición de organismo modificado genéticamente

Cuando Yang describió su proyecto sobre los hongos a los agricultores de Pensilvania y a los funcionarios del USDA en octubre de 2015, utilizó un término revelador para describir su procedimiento: «modificación genética sin transgenes». Se trata de un intento cuidadosamente pensado para distinguir las nuevas técnicas de edición genética de alta precisión, como CRISPR, de las primeras técnicas de la biotecnología agrícola, en las que se añadía ADN extraño (transgenes) a una especie vegetal. Para Yang y otros, esta delicada terminología resulta importante para replantear el debate de los transgénicos.

La reformulación es tanto filosófica como semántica, y se desarrolla conforme la administración Obama perfecciona el sistema por el que el Gobierno revisa los cultivos y alimentos modificados genéticamente. Conocido como Marco Coordinado para la Reglamentación de la Biotecnología, este proceso regulador, que no ha sido actualizado desde 1992, determina las funciones del USDA, de la Agencia Federal de Fármacos y Alimentos y de la Agencia de Protección Ambiental. El gran potencial de CRISPR ha añadido urgencia al replanteamiento normativo, y los científicos aprovechan la oportunidad para retomar una pregunta muy antigua: ¿Qué significa en realidad «modificado genéticamente»? Voytas, cuyo historial de publicaciones y patentes sobre cultivos editados genéticamente lo convierte en una suerte de asesor de las pequeñas empresas de agricultura biotecnológica en los EE.UU., responde con una risa sombría a esa pregunta: «El término OMG es un asunto peliagudo.»

¿Por qué es tan compleja la cuestión? La mayoría de los críticos de los alimentos biotecnológicos argumentan que cualquier forma de modificación genética conlleva posibles mutaciones o alteraciones no deseadas que podrían plantear riesgos para la salud humana o el ambiente. Científicos como Voytas y Yang responden que todos los sistemas de mejora vegetal, que se remontan hasta la creación del trigo panificable en el Neolítico, hace 3000 años, implican una modificación genética, y que las técnicas tradicionales de mejora no son biológicamente inocuas. Su aplicación, opina Yang, crea una «enorme» perturbación genética. (Nina Fedoroff, bióloga vegetal y expresidenta de la Asociación Estadounidense para el Avance de la Ciencia, se ha referido a las versiones domesticadas de trigo panificable, creadas por mejora tradicional, como «monstruosidades genéticas».)

Antes de la era del ADN recombinante, en la década de los setenta, que dio lugar a la primera generación de cultivos biotecnológicos, los fitomejoradores solían recurrir a métodos de fuerza bruta (rayos X, rayos gamma o productos químicos agresivos) para alterar el ADN de las plantas. A pesar de esa estrategia grosera, algunas de las mutaciones aleatorias creadas con ella originaron rasgos agrícolas deseables: mayor rendimiento, fruta mejor formada o capacidad de crecer en condiciones adversas, como la sequía. Estas mutaciones beneficiosas podían entonces combinarse con rasgos beneficiosos presentes en otras cepas, pero solo mediante el cruzamiento de las plantas. Tales cruzamientos conllevan mucho tiempo, a menudo entre cinco y diez años, pero al menos es un proceso «natural».

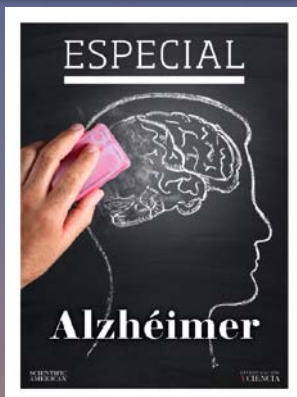
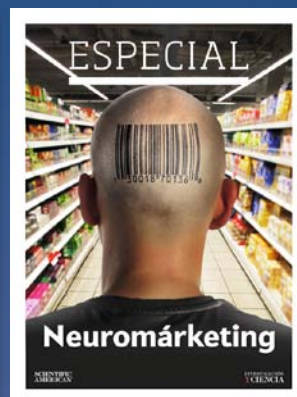
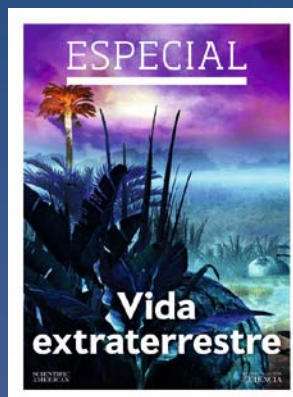
Pero también provoca fuertes cambios. En cualquier momento en que el ADN de dos individuos, ya sean humanos o plantas, se junta durante la reproducción, el material genético de ambos se entremezcla en un proceso conocido como recombinación cromosómica. En cada generación pueden aparecer mutaciones espontáneas, y cuando los mejoradores seleccionan un rasgo deseado pueden transferirse millones de pares de bases de ADN. Es natural, sí, pero también se forma «un gran revoltijo», según Voytas. «En el proceso no solo se desplaza un único gen», comenta. «Con frecuencia se mueve un fragmento de ADN bastante grande de la especie silvestre.» Además, durante el cruzamiento, el rasgo deseable arrastra a menudo con él un rasgo indeseable que se halla en la misma región de ADN, un efecto que puede dañar la planta obtenida de forma «natural». Basándose en varios descubrimientos recientes sobre las características genéticas del arroz, algunos biólogos plantean la hipótesis de que la domesticación ha introducido de forma inadvertida mutaciones perjudiciales «silenciosas» en la planta, además de los rasgos beneficiosos evidentes.

A pesar de que es más precisa que la mejora tradicional, la técnica CRISPR no resulta infalible. A veces corta una región del ADN que no es la de interés, y la frecuencia de estos cortes erróneos ha planteado problemas de seguridad (que también es la razón principal por la que la edición genética de espermatozoides y óvulos humanos todavía se considera insegura y poco ética). Jennifer Kuzma, analista de políticas de la Universidad estatal de Carolina del Norte que ha seguido la evolución de la agricultura transgénica desde su creación, comenta que la precisión tiene mérito, pero no necesariamente guarda relación con una reducción del riesgo; y añade que los cortes fuera de lugar pueden introducir una nueva forma de amenaza. Feng

ESPECIAL

MONOGRÁFICOS DIGITALES

Descubre los monográficos digitales que reúnen nuestros mejores artículos (en pdf) sobre temas de actualidad



www.investigacionyciencia.es/revistas/especial



Prensa Científica, S.A.

SI TE INTERESA
ESTE TEMA...

Descubre nuestro monográfico digital *Cultivos transgénicos*, que indaga en las ventajas y desventajas de estos cultivos para la producción de alimentos y aborda el intenso debate que genera la aplicación de la ingeniería genética a los productos agrícolas.



www.investigacionyciencia.es/revistas/especial

Zhang, del Instituto Broad (que ostenta la patente ahora en disputa) ha publicado varios perfeccionamientos del sistema de CRISPR que aumentan su especificidad y reducen los cortes erróneos.

La facilidad y el bajo coste de CRISPR también han permitido a laboratorios académicos y pequeñas empresas biotecnológicas entrar en un negocio que históricamente ha sido monopolizado por las grandes sociedades agrícolas. Al principio, solo las compañías con mucho dinero podían sufragar el costoso proceso de regulación, y hasta la fecha, casi todos los cultivos modificados mediante ingeniería genética se han creado para mejorar la economía de los agricultores o las empresas, gracias ya sea al elevado rendimiento de los cultivos de Monsanto resistentes a los herbicidas, o ya sea a la resistencia al envío y manipulación del tomate Flavr-Savr de Calgene. Esas modificaciones genéticas resultaban más atractivas para la agroindustria que para los consumidores, y no se centraban en la calidad de los alimentos. Según ha señalado un grupo de expertos en políticas agrícolas de la Universidad de California, «las corporaciones multinacionales que han dominado este campo durante la última década y media no tienen un historial brillante en términos de innovación más allá de seleccionar rasgos de resistencia a plaguicidas y herbicidas».

Los nuevos actores han traído un tipo diferente de innovación a la agricultura. Voytas sostiene que la precisión de la edición genética permite a los biotecnólogos dirigirse a los consumidores mediante la creación de alimentos más seguros y saludables. Voytas y su colega Caixia Gao, de la Academia China de Ciencias, han señalado que las plantas tienen muchos productos «antinutricionales». Se trata de sustancias nocivas o toxinas, algunas para la autodefensa, que podrían ser eliminadas mediante la edición genética para mejorar los rasgos nutricionales y de sabor. La patata de Calyxt, por ejemplo, presenta un menor sabor amargo asociado al almacenamiento en frío de los tubérculos.

Pero Voytas va más allá. Cree que la soja de Calyxt podría venderse a los agricultores como un producto no transgénico porque, a diferencia del 90 por ciento de la soja cultivada en EE.UU., las cepas editadas genéticamente carecen de genes foráneos. «Mucha gente no quiere productos transgénicos», apunta. «Con nuestro producto se podría obtener aceite o harina de soja no modificada genéticamente.»

Como toda nueva técnica de gran alcance, CRISPR hace pensar a algunos soñadores agrícolas en un futuro casi de ciencia ficción. Michael Palmgren, biólogo vegetal de la Universidad de

Copenhague, ha propuesto que se utilicen los nuevos métodos de edición genética para «reasilvestrar» plantas alimentarias, es decir, para recuperar los rasgos que se han perdido durante generaciones de selección agrícola. Varios cultivos de alimentos económicamente importantes, en particular, el arroz, el trigo, la naranja y el plátano, son muy vulnerables a los patógenos vegetales; la restauración de los genes perdidos podría aumentar su resistencia a las enfermedades. Palmgren y sus colaboradores daneses han señalado que la estrategia aspira a «revertir los resultados no deseados de la selección».

Los intentos de reasilvestrar ya están en marcha, pero con un toque distinto. Voytas explica que su laboratorio de la Universidad de Minnesota, en lugar de reintroducir los rasgos perdidos en las razas domésticas, está intentando lo que él llama «domesticación molecular»: la transferencia de genes agrícolas deseables de los híbridos existentes a las especies silvestres que sean más resistentes y más adaptables, como las formas ancestrales del maíz y las patatas. «Por lo general, fueron solo un puñado de cambios críticos (que afectaron a cinco, seis o siete genes), como el tamaño del fruto o el número de mazorcas de maíz, los que convirtieron una especie rústica en otra deseable», explica Voytas. En lugar de cruzar las variedades silvestres con las líneas domesticadas, lo que significaría diez años de fitomejoramiento, tal vez podamos simplemente dirigirnos a esos genes y domesticar la variedad silvestre.

Hay indicios de que la edición genética, incluida la técnica CRISPR, puede gozar también de un proceso regulador más rápido. Hasta ahora, los organismos legisladores estadounidenses parecen considerar que al menos algunos cultivos editados genéticamente son diferentes de los transgénicos. Cuando Calyxt preguntó por primera vez al USDA si sus patatas necesitaban una revisión de la normativa, los funcionarios federales tardaron alrededor de un año antes de decidir, en agosto de 2014, que la edición genética no precisaba una consideración especial; cuando la empresa volvió al USDA el verano del año pasado con la nueva soja, los colaboradores del Gobierno solo tardaron dos meses en llegar a una conclusión similar. Para las empresas, ello indica que las autoridades estadounidenses consideran las nuevas técnicas fundamentalmente distintas de los métodos transgénicos; los críticos, en cambio, piensan que hay un vacío legal del que las empresas se están aprovechando. Las setas de Yang pueden ser el primer alimento CRISPR examinado por el USDA. (El pasado abril, este organismo dio luz verde a su cultivo al considerar que no requerían someterse a un proceso regulador.)


Las técnicas nuevas como CRISPR están obligando a algunos Gobiernos a reconsiderar la definición de transgénico. En noviembre del año pasado, el Consejo de Agricultura sueco decretó que algunas mutaciones de plantas inducidas por CRISPR no se ajustan a la definición de transgénico de la Unión Europea, y Argentina ha llegado de manera similar a la conclusión de que ciertas plantas con genes editados quedan fuera de su reglamento de transgénicos. La Unión Europea, que históricamente ha restringido el cultivo de plantas modificadas genéticamente, está revisando su política a la luz de las nuevas estrategias de edición genética, pero su análisis jurídico, varias veces retrasado, no se hará público hasta finales de año, como muy pronto. Si bien una posición intermedia es poco factible, Voytas y otros han propuesto una solución de compromiso: la edición genética que causa una mutación o inactivación (*knock out*) de un gen debe considerarse análoga a las formas tradicionales de mejora vegetal (donde los rayos

X, por ejemplo, se utilizan para crear mutaciones), mientras que la edición genética en la que se introduce ADN nuevo (*knock in*) merece un escrutinio reglamentario basado en un análisis de caso por caso.

La hora de la verdad para la comercialización de los alimentos obtenidos de cultivos editados genéticamente tal vez no se halle demasiado lejos; Voytas cree que Calyxt realizará un «pequeño lanzamiento comercial» de su soja en 2017 o 2018. «Llevará algún tiempo obtener semilla suficiente para sembrar, por ejemplo, doscientas cincuenta mil hectáreas», comenta. «Pero estamos trabajando tan intensa y rápidamente como podemos.»

¿Cómo responderá la población? Kuzma predice que las personas que se han opuesto históricamente a la modificación genética no van a beber a corto plazo un refresco producido con CRISPR. «No es probable que el público que se oponía a la primera generación de transgénicos acepte esta segunda generación de ingeniería genética solo porque estamos ajustando un poco el ADN», apunta. «Simplemente van a meterla en el mismo saco que los transgénicos.» Kuzma está más preocupada por la necesidad de reformar la estructura reglamentaria general y escuchar más voces en el proceso de revisión en el «punto de inflexión» en el que nos hallamos, en el que cada vez más alimentos editados genéticamente están abriéndose camino para llegar al mercado.

Pero ¿qué ha sucedido con los champiñones de Yang? Más allá de los aplausos educados al final de su charla, la reacción de los productores de setas no está clara todavía. Yang lo reconoció cuando explicó a los agricultores: «Depende de ustedes que

el producto pueda comercializarse». Por ahora, el champiñón que no pardea es solo un proyecto de laboratorio, una prueba demostrativa preliminar. Si los productores no están convencidos de su valor o los consumidores lo rechazan, podría no ver la luz del día. Sería algo bueno para una seta, que crece en la oscuridad, pero quizá resulte inquietante para una técnica nueva y potencialmente transformadora. 

PARA SABER MÁS

Precision genome engineering and agriculture: Opportunities and regulatory challenges. Daniel F. Voytas y Caixia Gao en *PLOS Biology*, vol. 12, n.º 6, art. e1001877, junio de 2014.

Conflicting futures: Environmental regulation of plant targeted genetic modification. Adam Kokotovich y Jennifer Kuzma en *Bulletin of Science, Technology & Society*, vol. 34, n.º 3-4, págs. 108-120, junio-agosto de 2014.

Feasibility of new breeding techniques for organic farming. Martin Marchman Andersen et al. en *Trends in Plant Science*, vol. 20, n.º 7, págs. 426-434, julio de 2015.

A Face-lift for biotech rules begins. Emily Waltz en *Nature Biotechnology*, vol. 33, n.º 12, págs. 1221-1222, diciembre de 2015.

EN NUESTRO ARCHIVO

La edición genética, más precisa. Margaret Knox en *IyC*, febrero de 2015.

Riesgos de la edición genética. Jeantine Lunshof en *IyC*, agosto de 2015.

Cultivos transgénicos: sigue el debate. David H. Freedman en *IyC*, agosto de 2015.

¿Te gustaría que la biblioteca de tu barrio, escuela o universidad se suscribiera a INVESTIGACIÓN Y CIENCIA **DIGITAL**?

- Acceso permanente a **toda la hemeroteca digital**
- Información de calidad sobre el **avance de la ciencia y la tecnología**
- Contenidos de **gran valor didáctico** para tus clases y trabajos

www.investigacionyciencia.es/recomendar

Rellena el formulario de recomendación
y nosotros nos encargamos de las gestiones