



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA**

INFORME FINAL

**PROYECTO DEL FONDO DE INVESTIGACIÓN PESQUERA Y
ACUICULTURA**

**" Análisis del estado de la situación mundial y proyecciones de la
producción y uso de organismos genéticamente modificado con
énfasis en la acuicultura"**

FIPA N°2018-52

**PROPONENTE: DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN**

CONCEPCIÓN, JUNIO 2021.

JEFE DE PROYECTO

Ricardo Galleguillos González

AUTORES

**Sandra Ferrada Fuentes
Victoria Herrera Yáñez
Cristian B. Canales-Aguirre
Eduardo Tarifeño S.
Lilian Troncoso
Federico Winkler M.**

COLABORADORES

Oscar Inostroza-Michael

CONCEPCION, JUNIO 2021

RESUMEN EJECUTIVO

El presente resumen presenta los principales resultados del proyecto FIPA 2018-52 “*Análisis del estado de la situación mundial y proyecciones de la producción y uso de organismos genéticamente modificado con énfasis en la acuicultura*”, cuyo objetivo principal fue realizar un levantamiento de información respecto el estado del arte de la generación y utilización de Organismos Genéticamente Modificados (OGMs) a nivel mundial, con énfasis en la acuicultura.

Los principales temas revisados y analizados tienen relación con: i) las técnicas utilizadas para la generación de OGMs a nivel mundial, describir los principales usos científicos y productivos con énfasis en la producción de alimentos a través de la acuicultura, control sanitario, control ambiental y control de plagas hidrobiológicas; ii) analizar la normativa nacional e internacional respecto a los Organismos Genéticamente Modificados Hidrobiológicos (OGMH); y iii) realizar un diagnóstico de las perspectivas e interés público privado para realizar investigación, cultivo y comercialización con OGMH en la acuicultura chilena.

Los conceptos asociados a qué es un OGMH es bastante amplio y dependen del autor, del país, del sector productivo (e.g., agronomía, acuicultura), del marco regulatorio (e.g., nacional e internacional), entre otros aspectos. Es por ello que es de importancia aclarar las definiciones dadas para la normativa chilena en el ámbito de los organismos hidrobiológicos; y en consecuencia para la acuicultura.

La Ley General de Pesca y Acuicultura de Chile (LGPA N°18.892 y sus modificaciones) define a un OGM (Título I, Disposiciones generales, artículo 50), *como un organismo cuyo material genético ha sido alterado en una forma que no ocurre naturalmente por cruzamiento y/o por recombinación natural*. Posteriormente, la Ley 20.116 del 2006 modifica la LGPA, con el fin de prohibir o regular la importación o cultivo de especies hidrobiológicas genéticamente modificadas, estableciendo las sanciones relacionadas con el no cumplimiento de las medidas de protección y control que indica la ley respecto a OGMH (Artículo 118 bis, artículo 136 bis, artículo 137). Sin embargo, las respectivas regulaciones y normativas respecto a los OGMH no se han generado aún, por lo que actualmente cualquier actividad en torno a OGMH está prohibida en Chile.

La definición de OGMH utilizada en la legislación chilena se basa en la establecida por el Parlamento Europeo, que indica que un OGM es “cualquier organismo cuyo material genético ha sido modificado de una manera que no se produce de forma natural en el apareamiento o en

la recombinación natural, *siempre que se utilicen las técnicas que reglamentariamente se establezcan*”. Pero, la línea en cursiva de la definición, establecida por el Parlamento Europeo “... siempre que se utilicen las técnicas que reglamentariamente se establezcan ...”, no fue incluido en la legislación chilena, ni en LGPA, ni en algún reglamento o normativa.

En el análisis de la definición mencionada, se identifican varios aspectos importantes que no se tratan ni incluyen; por ejemplo, i) no aclara si los OGMH aplica a organismos unicelulares y/o multicelulares, organismos y/o microorganismos, ii) no aclara si los OGMH se refiere a organismos vivos modificados genéticamente, iii) no especifica si se refiere a una parte del OGMH o a un subproducto, iv) no aclara que técnica(s) serán las autorizadas por ley, normativa o reglamento en el ámbito de los OGMH (e.g transgenia, edición genómica, manipulación cromosómica), y v) no aclara si se autorizará el estudio, cultivo, liberación al medio ambiente, comercialización, y/o venta en Chile de OGMH.

Por las anteriores ambigüedades se hace necesario analizar y actualizar definiciones de OGMH a la luz de las nuevas herramientas de la biotecnología, con la finalidad de mejorar y adecuar la legislación chilena en esta materia, así como generar reglamentos y normativas *ad-hoc*.

Un primer paso es modificar o ampliar la definición de OGM en la LGPA, hacia una definición que se adecue a las nuevas tecnologías disponibles para generar un OGM. Proponemos la siguiente definición, en negrita los elementos nuevos a incluir: “un OGM es cualquier organismo cuyo material genético ha sido modificado de una manera que no se produce de forma natural en el apareamiento, recombinación natural, **o mutagénesis natural (o mutaciones espontáneas)**”.

Con esta definición, cualquier organismo al que se le haya modificado su material genético por medio de mutagénesis inducida, mutagénesis dirigida o edición genómica, se le consideraría un OGM en el ámbito de la acuicultura en Chile. Contrario a lo que sucede en Chile en el ámbito de la agricultura.

En este contexto se establece que dentro del concepto de OGM, existe una amplia variedad de términos que establecen sus diferencias principalmente a partir de la técnica o procedimiento con la cual se genera el OGM, del sector del genoma que se está modificando y el carácter o rasgo modificado.

Específicamente en acuicultura se identifican tres grupos de técnicas o procedimientos que generan un OGM: transgénesis, edición genómica y manipulación cromosómica.

En el caso de un transgénico, se refiere a organismos cuya composición genética ha sido alterada transfiriendo o introduciendo genes o secuencias de ADN de la misma u otras especies. La historia de la transgenia en especies hidrobiológicas comienza en 1982, con peces de acuariofilia a los cuales se les ha modificado genes relacionados con los melanóforos, y sigue hasta la actualidad con avances gigantescos al autorizar en el 2019 la venta para el consumo humano del salmón del Atlántico transgénico de AquaBounty en Estados Unidos y Canadá.

Desde comienzos de 1998, nuevas técnicas de modificación genética se han desarrollado para ser utilizadas en el ámbito de las modificaciones genéticas en especies hidrobiológicas. Este es el caso de las llamadas “tijeras moleculares” o edición genómica. Así, en menos de una década, técnicas como ZFN, TALEN y CRISPR aparecen en el ámbito de la biotecnología, siendo CRISPR desde el 2012 la plataforma que mayor avance tiene en la generación de los OGMH. Todas estas técnicas tienen como objetivo editar o modificar de manera precisa un gen en particular, y para esto utilizan cuatro vías: edición, inhibición, activación e interrupción permanente de la función de un gen o knock-out.

Un ejemplo de aplicación de la tecnología CRISPR en especies hidrobiológicas utilizadas en acuicultura, es del salmón del atlántico, donde se ha silenciado por CRISPR un gen relacionado con la pigmentación (*dnd*), los peces mutantes de la F0 perdieron totalmente la pigmentación, evidenciándose al mismo tiempo la pérdida de células germinales en las gónadas, demostrando la importante función del gen *dnd* en la determinación de las líneas germinales. Sin embargo, a pesar de los variados ejemplos de utilización de técnicas de edición genómica para generar OGMH, todavía no existe ningún experimento a nivel de desarrollo de cultivo comercial que formalmente se haya informado

Respecto al número de estudios por grupos de especies utilizadas en acuicultura y modificadas genéticamente, los peces superan de sobremanera, seguidos por algas y moluscos. En cuanto a las técnicas de modificación genética por grupo de especies, en algas y moluscos destaca la transgenia, y en peces la edición genómica mediante CRISPR.

Los países líderes en estudios de modificación genética en especies utilizadas en acuicultura corresponden a U.S.A, China y Japón en peces, a U.S.A, China y Corea del Sur en algas, y a U.S.A, China, Francia y Chile en moluscos.

La gran mayoría de las referencias indicadas en este estudio corresponden a informes de modificación genética con fines de investigación, experimentales y de biotecnología, sólo en una fase de desarrollo experimental, no verificándose en la revisión un desarrollo a nivel productivo.

Las técnicas de modificación genética en peces están altamente desarrolladas e informadas, en comparación con otras especies hidrobiológicas utilizadas en acuicultura, como algas y moluscos, estando muy encima de crustáceos y equinodermos. El estado del desarrollo de estas técnicas en peces presenta aplicaciones prácticas reales en acuicultura u otro ámbito.

De manera general y dentro de los principales usos científicos y productivos de los OGMs, los resultados muestran que dentro de los usos generales de OGM podemos encontrar: investigación básica, fabricación de productos terapéuticos, OGM en agricultura, uso de virus modificados genéticamente, industria de mascotas, control ambiental como biorremediación y ecotoxicología, así como productividad animal. Dentro de la proyección en la industria acuícola se evidencia que los peces modificados genéticamente se han desarrollado para estudiar procesos específicos como la tolerancia al frío, la resistencia a enfermedades, y la tasa de crecimiento. Más recientemente la edición genómica utilizando la técnica de CRISPR se aplicó con éxito, *in vivo* y en líneas celulares, de varios grupos de especies dentro de la acuicultura como Salmonidae, Cyprinidae, Siluridae, teniendo como objetivo estudiar rasgos reproductivos como la esterilidad, crecimiento y resistencia a enfermedades.

Según lo analizado, el desarrollo de la acuicultura como actividad comercial no necesariamente va de la mano con el desarrollo de investigaciones en OGM y su aplicación en acuicultura. La mayor parte del conocimiento en OGM está en etapa de investigación, producción experimental y hasta ahora Estados Unidos ha sido el único país que ha logrado la comercialización para consumo humano del salmón del atlántico transgénico bajo la etiqueta AquAdvantage®Salmon.

La mayor cantidad de investigación en especies hidrobiológicas la concentran Estados Unidos y China, país que ha desarrollado su investigación de modificación genética trabajando principalmente en algas, moluscos, peces y su aplicación ha sido principalmente de tipo experimental. Por otro lado, desde un enfoque productivo, Estados Unidos, China y Francia han

avanzado en este sentido; mientras que el resto de los países identificados con algún nivel de desarrollo en OGM lo realizan de forma de investigación sólo experimental.

En relación a la investigación con enfoque en acuicultura, destacan Australia con la ostra *Crassostrea gigas*; China (*Cyprinus carpio*, *Carassius auratus*, *Misgurnus mizolepis*, *M. anguillicaudatus*); Estados Unidos (*Morone saxatilis*, *Ictalurus punctatus*, *Oryzias latipes*, *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo salar*, *Litopenaeus vannamei*); Finlandia (*Salvelinus alpinus*, *O. mykiss*); Francia (*Crassostrea gigas*), Inglaterra, (*Oreochromis niloticus*), Japón (*Danio rerio*, *Penaeus monodon*); México (*Haliotis rufescens*) y Taiwan (*Haliotis diversicolor*). India con tradición en el mejoramiento genético para la producción de híbridos de carpas y en reproducción selectiva en la especie *Labeo rohita*., en materia de aplicación de técnicas biotecnológicas, realiza estudios experimentales en peces como *Oryzias latipes*, *Danio rerio* y la carpa *Labeo rohita*. En Japón, la investigación experimental en modificación genética se ha realizado en especies como *Oryzias latipes* (Medaka), el pez cebra (*Danio rerio*) y el camarón (*Penaeus monodon*).

Esta información da cuenta que a nivel mundial las tecnologías de acuicultura, las especies a cultivar, y la investigación para producir OGMH está desbalanceada con sólo algunos países que invierten en investigación y experimentación con fines productivos de OGMH.

Respecto a las normativas relacionadas con edición genómica, varios países ya han desarrollado legislaciones específicas para la regulación de los OGMH generados a partir de estas nuevas técnicas biotecnológicas, como son las técnicas de edición genómica.

Argentina fue uno de los primeros países en el mundo en establecer un marco regulatorio para la edición genómica, principalmente en el ámbito agrícola y ahora extrapolando al ámbito acuícola. A partir de aquí, otros países han seguido su ejemplo y han desarrollando marcos regulatorios y legislativos dependientes de las interpretaciones legales de las técnicas de edición genómica. En la mayoría de los países que regulan la edición genómica, el principal criterio para separar los organismos editados genéticamente de los OGMs es si el organismo editado genéticamente presenta o no una nueva combinación de material genético.

En este sentido, de los distintos resultados que se pueden obtener de la edición genómica; SDN1 o mutación aleatoria en un sitio predefinido, SDN2 o mutación específica en un sitio predefinido y SDN3 o incorporación de una secuencia de ADN en un sitio predefinido. Sólo la mutagénesis dirigida por nucleasas específicas con la incorporación de una secuencia de ADN en un sitio

predefinido, SND3, se considera un OGM, ya que contendría una nueva combinación de material genético.

Entonces de los organismos editados genéticamente, sólo los SDN3 son tratados bajo el marco regulatorio de los OGM en países como Alemania, Dinamarca y agencias como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y grupos técnicos como el New Technology Working Group (NYWG).

Otros países donde los organismos editados genéticamente no son tratados como un OGM según su normativa son: Brasil, Colombia, Japón, Honduras y Paraguay. Chile cuenta con igual criterio de decisión en el ámbito de la agricultura, y así queda establecido en las normativas del Servicio Agrícola Ganadero.

Uno de los ejemplos más detallados es Australia, que en su legislación tiene muy bien definido que corresponde y que no corresponde a un OGM, indicando las técnicas que los generarían.

Existen legislaciones menos flexibles, en donde incluso los organismos editados genéticamente no sólo son considerados OGM, si no que también transgénicos. Tal es el caso de la Unión Europea, donde el Tribunal Europeo establece que la edición con técnicas como CRISPR deben ser considerados transgénicos y, por tanto, deben estar regulados por las normativas que limitan su cultivo dentro de la UE, más no su importación.

En el caso de Estados Unidos y Canadá, la regulación de estos países se centra más en la naturaleza de los productos y resultados, más que en el proceso, técnica o procedimiento mediante el cual fueron producidos, ya que considera un producto como OGM cuando difiere significativamente en estructura, función o composición de las sustancias naturales que se encuentran actualmente en los alimentos.

De los reglamentos y disposiciones legales actualmente vigentes en Chile, se puede observar que con excepción de las leyes específicas, la legislación vigente se refiere sólo a organismos vegetales, lo cual demuestra la necesidad de fijar los criterios de la respectiva normativa específica para los OGMH que sean objeto de estudio, importación o producción en cultivos comerciales en Chile.

Con respecto a la gobernanza y estructura gubernamental en Chile según la legislación vigente, se puede observar que existen actualmente varios ministerios del Estado que coparticipan en la normativa de los OGM, tales como: i) el Ministerio de Salud, ii) Ministerio de Economía,

Fomento y Turismo, iii) Ministerio del Medio Ambiente y iv) Ministerio de Agricultura. Además, por el momento, el único organismo regulador para los efectos del uso de los OGM en Chile, es el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) que depende del Ministerio de Agricultura y es la única entidad responsable de establecer las normas y procedimientos para la importación y liberación de OGM vegetales bajo condiciones reguladas de bioseguridad. En base a la positiva experiencia de esta regulación, se sugiere tomar al SAG como modelo de referencia para establecer una normativa similar para los OGMH.

Conociendo la información recopilada de las normativas, gobernanzas y estructuras gubernamentales existentes en otros países se presenta una propuesta de gobernanza para los OGM hidrobiológicos en Chile que incluye la participación de 4 ministerios, la creación de un comité técnico, grupos de trabajo y entes consultores con profesionales especialistas representando diferentes áreas que guardan relación con los OGMH.

Respecto a la encuesta diseñada con el propósito de conocer las perspectivas e interés en los OGM para su uso en acuicultura, tanto en el sector público como privado, se destacan los resultados indicados a continuación.

Un 92% de los encuestados señala saber qué es un OGM, en cuanto a la cita de ejemplos de alimentos genéticamente modificados, la Soya, el Maíz, el Tomate y los salmones resaltan en frecuencia de mención por parte de quienes respondieron a la consulta.

Respecto de la identificación de un OGM, alrededor de un 50% declara saber cómo hacerlo y el otro 50% indica que no sabe. Este aspecto resulta relevante al momento de proponer estrategias de enseñanza sobre qué es un OGM, qué alimentos son genéticamente modificados y las perspectivas que tiene Chile en esta materia en el ámbito de la acuicultura.

Interesante son las respuestas sobre cómo identificar un OGM. Entre las respuestas señaladas está el etiquetado como la forma de identificación, aspecto que en la regulación chilena aún no es obligatorio, ni se ha normado para el mercado interno y externo.

En materia de riesgos, aproximadamente un 48% de los encuestados señaló que no existe riesgo para la salud humana, pero un 30% opina lo contrario. Al consultar sobre si los efectos son negativos o positivos, sobre el 32% de las respuestas corresponden a la opción No Sabe. Ante la consulta sobre el potencial traspaso de genes modificados al ser humano, el 65% de las respuestas marcaron la opción que no hay.

Sin embargo, una tendencia mayor la encontramos en las preguntas sobre los riesgos para el medio ambiente, ya que el 60% de los encuestados consideran que los OGM son un riesgo para el medio ambiente, tanto en el ámbito de la producción de alimentos como riesgos ecológicos.

En las preguntas sobre investigación, aproximadamente el 78% de los encuestados consideran que se debe realizar investigación científica y que la producción de OGM debe estar respaldada por ella.

En materia sobre la factibilidad del cultivo de OGMH, un 54% lo considera factible, un 84% señala que el cultivo de OGM se debe realizar en sistemas de cultivo cerrados, y un 91% considera que estos cultivos deben ingresar al Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA).

En cuanto a la factibilidad de llevar el cultivo de OGMH a un nivel netamente productivo, los resultados muestran mayor dispersión, así un 44% de los encuestados lo considera factible, un 38% está en desacuerdo o muy en desacuerdo y el 18% no sabe.

En las preguntas sobre conceptos y técnicas empleados para obtener OGM, un 48% de los encuestados consideran que los conceptos de transgenia y edición genética son distintos, y un 38% no sabe. El 58% considera que ambos, transgenia y edición genética generan OGM y un 66% considera que la normativa debe distinguir entre mejoramiento genéticos asistido por marcadores genéticos del mejoramiento asistido por fenotipos.

El análisis general de los resultados del taller muestra un escenario adecuado para promover el mayor desarrollo de investigación y producción en cultivo de OGMH en Chile, dadas las fortalezas indicadas por los participantes, como son el conocimiento en investigación y en tecnologías y la infraestructura para su ejecución. Además, se cuenta con profesionales e investigadores que manejan conocimiento científico y tecnológico necesario para el desarrollo de OGMH. Se reconoce, además, la existencia de una institucionalidad y normativa que, sin embargo, requiere de una gobernanza específica para el desarrollo en investigación y producción de OGMH, como, por ejemplo, contar con un Comité Consultivo Científico-Técnico, como lo tiene el Servicio Agrícola y Ganadero para los efectos de la regulación de OGMs de origen vegetal

Los participantes visualizaron oportunidades de negocio y nuevos mercados, desarrollo tecnológico y biotecnológico para su aplicación en este campo, la generación de planes de

capacitación en investigación y en la producción. El interés por promover la investigación en los ámbitos para el desarrollo de OGMH, consideró de alta relevancia la disposición a la modificación normativa pesquera y acuícola en la materia; la disminución de la huella de carbono, relacionada con la disminución de tiempo de producción y del uso de fármacos.

Entre los aspectos que generan preocupación entre los encuestados, está el marco regulatorio existente para los OGMH, que se señala como inexistente, deficiente, obsoleto, poco flexible, ya que no hay reglamentación específica que acompañe a lo que se señala en la LGPA vigente.

En la línea de la normativa, surgió como debilidad el bajo nivel de cumplimiento de las normativas pesqueras y ambientales por parte del sector productivo relacionado con la acuicultura en Chile, lo cual podría extenderse a los OGMH

Dado los resultados de las encuestas y del análisis grupal, se destaca la importancia de informar a la comunidad y, en especial, a los educandos en los distintos niveles de educación formal, sobre los OGM, ya que una de las amenazas detectadas es la percepción negativa que se tiene con la industria de cultivos, especialmente salmones y de los OGMs en la industria agrícola.

Los riesgos asociados a los escapes de OGMH desde centros de cultivos y su desconocido efecto sobre la biodiversidad y el medio ambiente, resaltan también en los análisis y discusiones. Otro aspecto que fue considerado como amenaza, es la falta de inversión pública y privada para el desarrollo de investigación aplicada en el cultivo de OGMH.

INDICE

Objetivos	20
Justificación	21
Desarrollo por objetivos	22
Objetivo específico 4.1	22
¿Qué son los organismos genéticamente modificados OGM?.....	22
Origen y restricciones de la definición de OGM hidrobiológicos en la legislación chilena.....	23
Transgénesis.....	26
Historia de los organismos genéticamente modificados en especies hidrobiológicas, con énfasis en acuicultura.....	28
Técnicas de edición genómica ó mutagénesis dirigida por nucleasas específicas (SiteDirected Nucleases, SDNs).....	39
Metodologías de edición genómica.....	41
Metodologías para la edición genómica: ZFNs, TALENs, y CRISPR.....	44
Mecanismos de reparación de cadenas de ADN.....	45
Reparación de cadenas de ADN mediante la unión de extremos no homólogos.....	45
Reparación de cadenas asistida por plantilla.....	45
Aplicación de los mecanismos de reparación en la edición de genoma: el truco de la edición genómica.....	46
Metodología ZFN.....	49
Metodología TALEN.....	53
CRISPR/Cas9.....	54
Desafíos en la edición de genoma y brechas a considerar.....	57
Técnicas de liberación o transfección de ácidos nucleicos en transgénesis y edición genómica en animales.....	58
Resumiendo: ¿Es lo mismo un organismo modificado genéticamente que un organismo transgénico?.....	64
¿Es lo mismo un organismo transgénico que un organismo editado genéticamente?.....	64
Levantamiento bibliográfico y análisis de literatura científica relacionada con técnicas de edición genómica para especies de interés en acuicultura.....	68
Conclusiones.....	73
Referencias.....	105

Objetivo específico 4.2.....	130
Usos Científicos y productivos.....	131
Investigación Básica.....	131
Fabricación de productos terapéuticos.....	131
Organismos Genéticamente modificados en agricultura.....	133
Uso aplicado de virus genéticamente modificados.....	135
Industria de mascotas.....	137
Control Ambiental: Biorremediación.....	137
Control Ambiental: Ecotoxicología.....	139
Control de Plagas Hidrobiologicas	141
Productividad Animal.....	143
Proyección en la industria acuícola.....	144
Ejemplo y caso exitoso de OGM en acuicultura llevado a escala comercial: salmón transgénico aquadvantage.....	152
Proyección de OGMH Hidrobiologicos dentro de los próximos años en Chile.....	153
Métodos disponibles para detección de OGM´s en Chile.....	154
Control Sanitario en OGM.....	157
Referencias.....	159
Objetivo específico 4.3.....	171
Identificación de experiencia internacional y nacional.....	171
Aspectos regulatorios y normativa sobre edición de genoma.....	199
Recopilación y análisis de normativas en leyes chilenas vigentes relacionadas con los ogms de origen marino.....	221
Ejemplos de normativas extranjeras sobre OGMs.....	212
Conclusiones.....	227
Propuesta de gobernanza y estructura gubernamental para los organismos genéticamente modificados hidrobiológicos en Chile.....	228
Referencias.....	234
Objetivo específico 4.4.....	236
Diseño de la encuesta.....	240
Análisis estadísticos de la encuesta.....	242
Instrumento aplicado.....	243

Resultados.....	251
Talle Participativo.....	270
Resultados.....	275
Referencias.....	290
ANEXO 1: Personal Participante por actividad	
ANEXO 2: Archivo Excel con base de datos completa	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Hitos históricos de transgenia en el área de acuicultura. Extraído y modificado desde Kapuscinski et al., 2007. Environmental risk assessment of genetically modified organisms.....	31
Tabla 2. Ejemplos de organismos genéticamente modificados transgénicos, utilizados en acuicultura. Extraído y modificado desde Saxena & Jha, 2013, y Rasmussen & Morrissey, 2007.....	32
Tabla 3. Comparación de plataformas o prototipos de técnicas de edición genómica. Extraída y modificada desde Khan, 2019 y Eid & Mahfouz, 2016. Sertori et al., 2015. Chen et al., 2014. Rocha-Martins et al., 2015.....	66
Tabla 4. Tabla resumen de organismos genéticamente modificados utilizados en acuicultura.....	88
Tabla 5. Aplicaciones exitosas de la edición del genoma CRISPR / Cas9 hasta la fecha en especies de acuicultura. Extraído y modificado de Gratacap et al., 2019.	150
Tabla 6. Genomas secuenciados en especies acuícolas. Extraído y modificado de Yu & Wang, 2017..	151
Tabla 7. Principales diferencias de los ensayos basados en la detección de ADN y en la detección de proteínas. Extraído y modificado desde Corona et al., 2006.....	156
Tabla 8. Países con regulación y normativas sobre edición de genomas.....	201
Tabla 9. Actores identificados por sector de interés y contactados para aplicación de encuesta e invitación a Taller, sector productivo, empresas biotecnológicas y de cultivo.....	236
Tabla 10. Actores identificados por sector de interés y contactados para aplicación de encuesta e invitación a Taller, sector público.....	238
Tabla 11. Actores identificados por sector de interés y contactados para aplicación de encuesta e invitación a Taller, sector academia.....	239
Tabla 12. Número de participantes en encuesta por sector de actividad. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	251
Tabla 13. Matriz de resultados del trabajo grupal en términos de brechas, proyecciones y perspectivas en el desarrollo de OGMH en Chile.....	285

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales técnicas y/o procedimientos que generan OGM. Construcción propia....	25
Figura 2. Esquema general de los tipos de transgénicos que se pueden generar a partir de las características del ADN insertado en el genoma receptor. Construcción propia.....	27
Figura 3. Hitos históricos de transgenia en el área de acuicultura. Construcción propia.....	30
Figura 4. Transgen insertado en el Salmon del Atlántico, Salmo salar, por AquaBounty Technologies Inc.....	37
Figura 5. AquAdvantage®Salmon. Salmón del Atlántico transgénico, Salmo salar, que es creación de la empresa norteamericana AquaBounty Technologies Inc. Figura extraída y modificada desde https://www.youtube.com/watch?v=oyb3c9qbbK0 , y https://aquabounty.com	38
Figura 6. Esquema general del corte de una doble hebra de ADN por acción de la nucleasa Cas, como parte de la edición genómica por medio de la técnica CRISPR/Cas.....	40
Figura 7. Esquema general de las técnicas de edición genómica disponibles y en investigación. Extraído y modificado desde Khan et al., 2019.....	41
Figura 8. Evolución de las referencias alojadas en PubMed, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/ , para el conjunto de técnicas de edición genómica. Palabra clave “genome-editing technologies”.....	43
Figura 9. Referencias alojadas en PubMed, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/ , para técnicas de edición genómica individualizadas.....	44
Figura 10. Distintos resultados de la mutagénesis dirigida por nucleasas específicas (SiteDirected Nucleases, SDNs), o técnicas de edición genómica.....	46
Figura 11. Plataformas de tijeras moleculares; ZFNs, TALENs, y CRISPR/Cas9.....	48
Figura 12. Estructura y modos de reconocimiento de nucleasas de ZFNs, TALENs y CRISPR/Cas9. Extraído y modificado desde https://www.genengnews.com/magazine/219/comparing-genome-editing-technologies/	51
Figura 13. Principales pasos del diseño de modificación genética mediante edición genómica en peces de acuicultura.....	52
Figura 14. Número de referencias científicas para OGMH.....	74
Figura 15. Número de referencias científicas para OGMH, y por técnica de modificación genética.....	75
Figura 16. Número de referencias científicas revisadas para OGMH, y por área de aplicación.....	76
Figura 17. Número de referencias científicas para OGMH y por nivel de desarrollo.....	76

Figura 18. Número de referencias científicas revisadas por nivel de desarrollo en OGMH en acuicultura.....	77
Figura 19. Número de referencias científicas por año y por técnica para generar OGMH.....	77
Figura 20. Número de referencias científicas relacionadas con OGMH en acuicultura, por año y por área de aplicación.....	78
Figura 21. Número de referencias científicas por país para cada grupo de OGMH.....	78
Figura 22. Número de referencias científicas por técnica de generación de OGMH, para cada grupo de especies en acuicultura.....	79
Figura 23. Número de referencias científicas revisadas por técnica de generación de OGMH, por nivel de desarrollo.....	80
Figura 24. Número de referencias científicas por técnica de generación de OGMH, por país.....	81
Figura 25. Número de referencias científicas por técnica de generación de OGMH, por área de aplicación.....	82
Figura 26. Número de referencias científicas revisadas por nivel de desarrollo y por grupo de especies OGMH en acuicultura.....	83
Figura 27. Número de referencias científicas por nivel de desarrollo y por país, en especies OGMH en acuicultura.....	83
Figura 28. Número de referencias científicas por área de aplicación y por grupo de especies OGMH en acuicultura.....	84
Figura 29. Número de referencias científicas por área de aplicación y por país para los grupos de especies OGMH en acuicultura.....	84
Figura 30. Frecuencia de técnicas de modificación genética aplicada en peces.....	85
Figura 31. Frecuencia de países que realizan estudios de modificación genética aplicada en peces.....	85
Figura 32. Frecuencia de las principales especies de peces sometidas a modificación genética en el mundo.....	86
Figura 33. Frecuencia de áreas de aplicación donde se utilizan técnicas de modificación genética en peces.....	86
Figura 34. Frecuencia del nivel de desarrollo de estudios asociados a técnicas de modificación genética en peces.....	87
Figura 35. Producción acuícola de Estados Unidos para diferentes ambientes acuáticos.....	175
Figura 36. Producción acuícola de China para diferentes ambientes acuáticos.....	177
Figura 37. Producción acuícola de India para diferentes ambientes acuáticos.....	178
Figura 38. Producción acuícola de Egipto para diferentes ambientes acuáticos.....	180

Figura 39. Producción acuícola de Japón para diferentes ambientes acuáticos.....	182
Figura 40. Producción acuícola de Australia para diferentes ambientes acuáticos.....	183
Figura 41. Producción acuícola de Francia para diferentes ambientes acuáticos.....	185
Figura 42. Producción acuícola de Israel para diferentes ambientes acuáticos.....	186
Figura 43. Producción acuícola de Italia para diferentes ambientes acuáticos.....	187
Figura 44. Producción acuícola de México para diferentes ambientes acuáticos.....	189
Figura 45. Producción acuícola de Reino Unido de Gran Bretaña para diferentes ambientes acuáticos.....	190
Figura 46. Producción acuícola de Finlandia para diferentes ambientes acuáticos.....	191
Figura 47. Producción acuícola de Alemania para diferentes ambientes acuáticos.....	192
Figura 48. Producción acuícola de Noruega para diferentes ambientes acuáticos.....	194
Figura 49. Producción acuícola de Rusia para diferentes ambientes acuáticos.....	195
Figura 50. Producción acuícola de Corea para diferentes ambientes acuáticos.....	197
Figura 51. Producción acuícola de España para diferentes ambientes acuáticos.....	198
Figura 52. Propuesta de organigrama institucional jerárquico del comité técnico de organismos genéticamente modificados hidrobiológicos dentro del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo (Proyecto FIPA 2018-52).....	233
Figura 53. Preguntas de opción SI o NO sobre conocimiento general sobre OGM. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	252
Figura 54. Ejemplos de organismos genéticamente modificados presentes en Chile, según los encuestados. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	252
Figura 55. Alimentos modificados genéticamente que se consumen en Chile según encuestados. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	253
Figura 56. Preguntas asociadas a la identificación de un OGM o alimentos genéticamente modificados. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	254
Figura 57. Preguntas asociadas al efecto del consumo de OGMH para la salud humana. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	255
Figura 58. Respuestas asociadas a las consultas sobre riesgos ambientales relacionados con los OGMH. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	255

Figura 59. Preguntas asociadas con la investigación sobre OGMH en Chile. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	258
Figura 60. Preguntas relacionadas con factibilidad de cultivo comercial y etiquetado de OGMH en Chile. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	259
Figura 61. Grupo de preguntas asociadas a factibilidad productiva de OGMH en Chile. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	263
Figura 62. Grupo de preguntas sobre conceptos asociados a OGMs, técnicas para generar OGMs, mejoramiento genético mediante selección y reglamentaciones al respecto en Chile. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	266
Figura 63. Invitación al Taller “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	272
Figura 64. Programa del Taller “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	274
Figura 65. Listado de asistentes al Taller “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	276
Figura 66. Asistentes al Taller “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.....	289

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Personal Participante por actividad

ANEXO 2: Archivo Excel con base de datos completa

En el contexto de las Bases de licitación pública del proyecto FIPA 2018-52 “Análisis del estado de la situación mundial y proyecciones de la producción y uso de organismos genéticamente modificado con énfasis en la acuicultura”, se presenta el siguiente objetivo general.

OBJETIVO GENERAL

Realizar un levantamiento de información respecto el estado del arte de la generación y utilización de Organismos Genéticamente Modificados a nivel mundial, con énfasis en la acuicultura.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

4.1 Realizar un levantamiento de información de las diferentes técnicas utilizadas para la generación de Organismo Genéticamente Modificados a nivel mundial

4.2 Describir los principales usos científicos y productivos de los Organismos Genéticamente Modificados, y de sus técnicas, con énfasis en la producción de alimentos a través de la acuicultura, control sanitario, control ambiental y control de plagas hidrobiológicas.

4.3 Realizar un análisis de la experiencia internacional respecto de la investigación científica, uso y producción de Organismo Genéticamente Modificado con énfasis en la acuicultura.

4.4 Realizar un diagnóstico de las perspectivas e interés público privado para realizar investigación, cultivo y comercialización con Organismos Genéticamente Modificados en la acuicultura chilena.

JUSTIFICACIÓN

En Chile, específicamente en la agricultura, el uso de cultivos transgénicos para la producción de semillas con fines de exportación y la reproducción controlada de semillas para fines asociados a la investigación y ensayos de campo, está permitido y, al igual que en otros países, estrictamente regulado.

Si bien en Chile, la práctica productiva a partir de OGMs no es habitual, debido al avance mundial que ha habido en estas materias, se hace necesario disponer de información sólida y actualizada que apoye las decisiones administrativas que se puedan adoptar para desarrollar actividades con Organismo Genéticamente Modificados, principalmente en relación a la acuicultura.

A partir de este proyecto se espera obtener la información necesaria que permitan apoyar la toma de decisiones por parte de la autoridad respecto del desarrollo de actividades partir de la utilización de Organismos Genéticamente Modificados en Chile, en atención al avance de la ciencia a nivel mundial en esta materia.

DESARROLLO POR OBJETIVOS

Objetivo Específico 4.1 Realizar un levantamiento de información de las diferentes técnicas utilizadas para la generación de Organismo Genéticamente Modificados a nivel mundial

¿Qué son los organismos genéticamente modificados OGM?

Para efectos del presente informe, es necesario definir conceptos y términos. Dejando claridad que estos pueden ser modificados ante nuevas tecnologías. Estos conceptos y términos aplican exclusivamente a especies hidrobiológicas definidas en la Ley General de Pesca y Acuicultura (LGPA n° 18.892 y sus modificaciones) de Chile.

Recursos hidrobiológicos (artículo 36 de la LGPA) son las **especies hidrobiológicas** (artículo 2 número 17), entendidas como organismos en cualquier fase de desarrollo, que tengan en el agua su medio normal o más frecuente de vida.

A la fecha, la LGPA define a un **organismo genéticamente modificado**, en sus siglas OGM (Título I, Disposiciones generales, artículo 50), como un organismo cuyo material genético ha sido alterado en una forma que no ocurre naturalmente por cruzamiento y/o por recombinación natural. Posteriormente, la Ley 20.116 del 2006 modifica la LGPA, con el fin regular la importación o cultivo de especies hidrobiológicas genéticamente modificadas. Estableciendo las sanciones relacionadas con el no cumplimiento de las medidas de protección y control que indica la ley respecto a OGMs hidrobiológicos, de aquí en adelante OGMH (Artículo 118 bis, artículo 136 bis, artículo 137). Sanciones que van entre las 50 a 5.000 UTM, multiplicadas por tres o cuatro en caso de reincidencia, incluyendo presidio menor en distintos grados, y clausura de establecimientos.

En la LGPA, se indica que la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, dependiente del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, quien podrá autorizar la importación de especies hidrobiológicas catalogadas como OGMs previa realización de un estudio sanitario, que incluya efectos del impacto ambiental (artículo 52 de la LGPA). Todos los OGMs hidrobiológicos autorizados para importación deben pasar a formar parte de una nómina de autorización para el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, y el Servicio Nacional de Aduanas. Destacando que

existirá un reglamento que determinará las condiciones y modalidades de los términos técnicos de referencia de los estudios. Reglamento y nómina que aún no existe.

El artículo 87 bis, se indica que, por decreto supremo expedido por el Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, y mediante reglamento se determinarían las medidas de protección y control bajo las cuales se autorizara la introducción, importación, investigación, cultivo y comercialización de OGMs a fin de evitar su propagación al ambiente natural. Al mismo tiempo que deberá existir un registro de las personas que realicen algunas de las actividades señaladas anteriormente. Reglamento y registro que aún no existe.

Origen y restricciones de la definición de OGM hidrobiológicos en la legislación chilena

La definición de OGMH utilizada en la legislación chilena (en negrita y cursiva) se basa en la establecida por la “Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de marzo de 2001, que trata sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente”, y por el gobierno español en el artículo 2.b) de la Ley 9/2003, que indica que un OGM es “***cualquier organismo cuyo material genético ha sido modificado de una manera que no se produce de forma natural en el apareamiento o en la recombinación natural***, siempre que se utilicen las técnicas que reglamentariamente se establezcan”. La última línea de la definición establecida por el Parlamento Europeo “... siempre que se utilicen las técnicas que reglamentariamente se establezcan ...”, no fue incluido en la legislación chilena, ni en la LGPA, ni en algún reglamento o normativa.

Al analizar la definición de OGMH en la LGPA se identifican vacíos de información. Destacando que en Chile no existen reglamentos o normativas relacionadas con OGMH. Dentro de los vacíos de información en la LGPA se identifican los siguientes:

- no se aclara si los OGMH aplica a organismos unicelulares y/o multicelulares.
- no hace referencia al estadio de vida, fase del desarrollo ontogénico, o estado reproductivo al que se puede generar un OGMH (e.g ovas, gametos, embriones, semillas, juveniles, adultos, reproductores, u otros).
- no especifica si los OGMH se refieren a solo organismos vivos modificados genéticamente (OVM), una parte del OGMH o un subproducto.

- no aclara que técnica(s) o procedimiento(s) serán las autorizadas por ley, normativa o reglamento en el ámbito de los OGMH (e.g transgenia, edición genómica, manipulación cromosómica).
- no aclara si se autorizara cultivo, liberación al medio ambiente, comercialización, y/o venta en Chile de OGMH.

Estos vacíos identificados resaltan la necesidad de reanalizar y actualizar las definiciones asociadas a OGMH a la luz de las nuevas herramientas biotecnológicas, con la finalidad de adecuar la legislación chilena, de manera que se puedan generar reglamentos y normativas ad hoc. Se propone lo siguiente:

Un primer paso sería modificar o ampliar la definición de OGM en la misma LGPA, hacia una definición que se adecue a las nuevas tecnologías disponibles para generar OGM. En este sentido, proponemos que un OGM en la LGPA debería ser (en negrita los elementos nuevos a incluir): “un OGM es cualquier organismo cuyo material genético ha sido modificado de una manera que no se produce de forma natural en el apareamiento, recombinación natural, **o mutagénesis natural (o mutaciones espontáneas)**”.

Al agregar en la definición a las mutaciones espontáneas, como una manera de modificar material genético de forma natural, se excluye a las mutaciones inducidas o dirigidas, lo que se conoce actualmente como técnicas de edición genómica. En consecuencia, a cualquier organismo que se le haya modificado su material genético por medio de mutagénesis inducida o dirigida se le consideraría un OGM. En este contexto debemos establecer que dentro del concepto de OGM propuesto, existe una amplia variedad de términos que establecen sus diferencias principalmente a partir de la técnica o procedimiento con la cual se genera el OGM, del sector del genoma que se está modificando y el carácter o rasgo modificado. De manera general se identifican principalmente cuatro grupos de técnicas o procedimientos que generan un OGM: transgénesis, edición genómica y manipulación cromosómica (Figura 1). Dado los alcances de este informe sólo nos referiremos a la transgénesis y la edición genómica, que son las herramientas biotecnológicas mayormente utilizadas en el ámbito de los OGMH en la producción acuícola con fines de alimentación humana y animal, tal como se enfatiza en las bases técnicas y en la oferta técnica de la presente investigación.

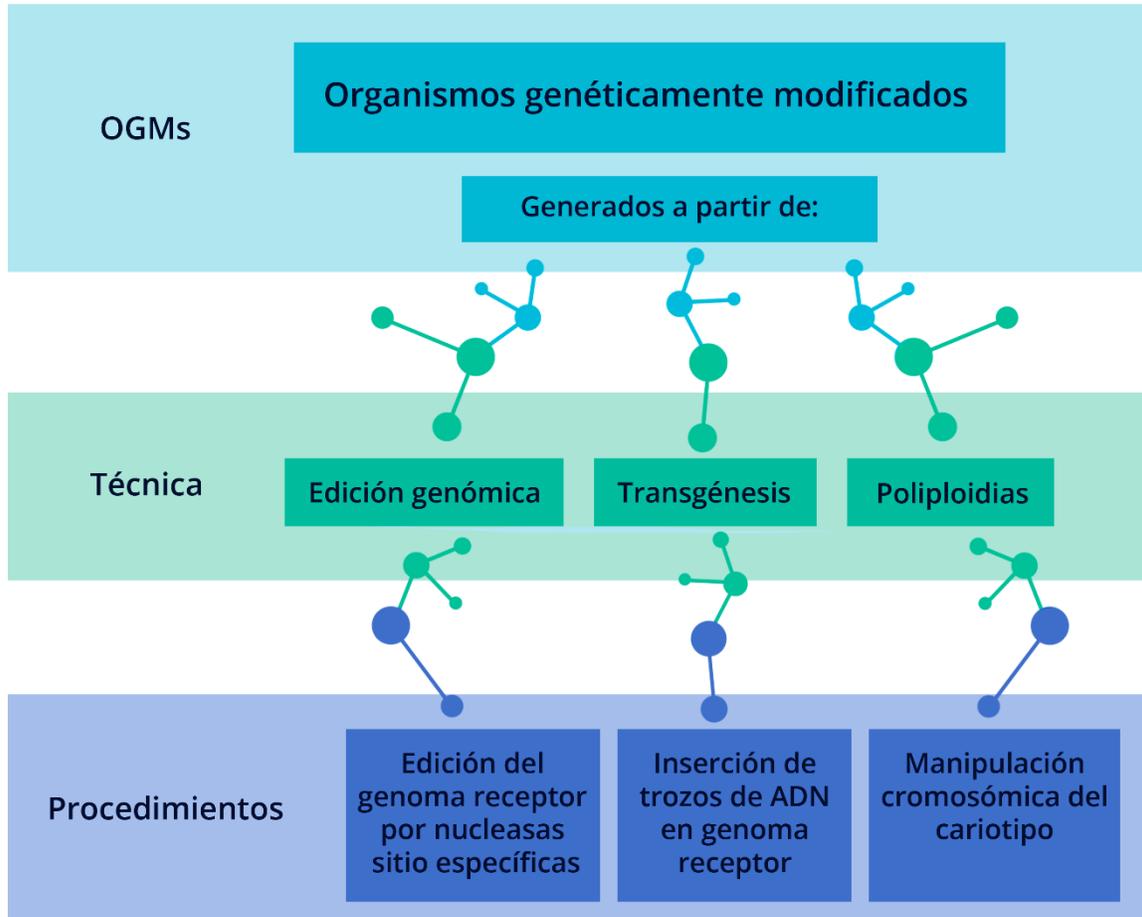


Figura 1. Principales técnicas y/o procedimientos que generan OGM. Construcción propia.

Transgénesis

La primera terminología incluida en los OGMs, hablando temporalmente, se refiere a los organismos **transgénicos**, entendiendo como transgénico a un organismo (organismo receptor) cuya composición genética ha sido alterada transfiriendo o introduciendo genes o secuencias de ADN (**transgen ó ADN constructo**) de organismos de la misma especie (organismo donador), llamados **autotransgénicos**, o transfiriendo genes o secuencias de ADN de organismos de otra especie, llamado **alotransgénico**. Estas diferencias en las técnicas y en consecuencia, diferencias en los resultados de la modificación genética, se pueden utilizar para desarrollar normativas particulares, ya que sus particularidades deben ser consideradas al momento de normar la introducción, importación, investigación, cultivo y comercialización de OGMH en Chile.

Dentro de la autotransgénesis, encontramos la **cisgénesis** y la **intragénesis**. Ambos términos aplicados con más frecuencia en el ámbito de OGMs vegetales.

En el caso de la **cisgénesis** se trata de un OGM donde el organismo donador y receptor son de la misma especie o especies estrechamente emparentados, sexualmente compatibles, en donde el gen o genes transferidos incluyen los intrones, promotores y terminadores (Espinoza et al., 2013). Es decir, el ADN recombinante a transferir es una copia exacta del gen del organismo receptor.

En el caso de la **intragénesis** se trata de un OGM donde el organismo donador y receptor son de la misma especie o especies estrechamente emparentados, sexualmente compatibles, en donde el gen o genes transferidos es un conglomerado de diferentes genes, es decir una combinación novedosa de elementos genéticos. Así el ADN recombinante a transferir no es una copia del gen del organismo receptor, es un fragmento de ADN reorganizado (Espinoza et al., 2013).

La cisgénesis e intragénesis difiere de la transgénesis en la medida que no se hacen modificaciones o inserciones de genes entre organismos no sexualmente compatibles. Figura 2.

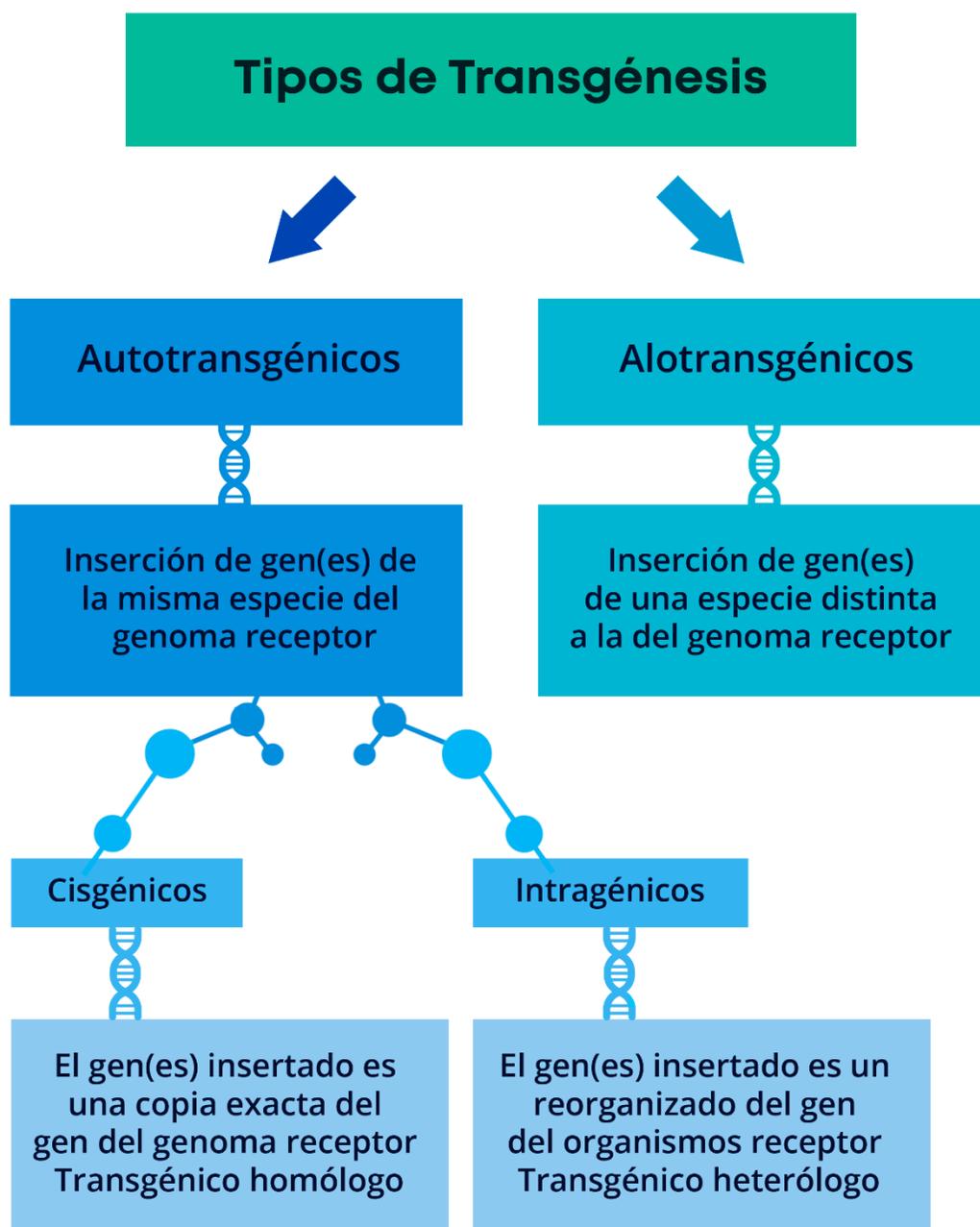


Figura 2. Esquema general de los tipos de transgénicos que se pueden generar a partir de las características del ADN insertado en el genoma receptor. Construcción propia.

Historia de los organismos genéticamente modificados hidrobiológicos, con énfasis en acuicultura

La historia de la modificación genética **en animales** comienza con Gordon et al., (1980), que aplica por primera vez la técnica de microinyección de genes foráneos dentro de embriones de ratas con fines de modificación genética, generando el primer animal transgénico.

El primer reporte de un OGMH transgénico lo realizó Vielkind et al., (1982), inyectando un gen responsable de la formación de melanóforos en embriones de ejemplares de *Xiphophorus* sp, peces muy comunes en la acuariofilia. Así desde la década de los 90' y gracias al desarrollo de sofisticadas herramientas en biotecnología y bioinformática, más de 200 investigaciones relacionadas con organismos genéticamente modificados en acuicultura se han reportado formalmente

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=genetically+modified+organisms+aquaculture>).

Maclean & Talwar (1984), y Zhu et al., 1985, reportan los primeros OGMH de importancia en acuicultura, informando la exitosa microinyección de genes clonados en huevos de trucha arcoiris, *Onchorhynchus mykiss* y pez dorado *Cyprinus carpio*, respectivamente. Desde estos primeros experimentos de transgenia, variados son los ejemplos de generación de OGMH en acuicultura, destacando importantes hitos (Tabla 1. Figura 3).

A la fecha, la única autorización de un OGMH proveniente de la acuicultura para consumo humano es el salmón del atlántico, *Salmo salar*. Comercialmente llamado AquAdvantage®Salmon, es un transgénico creado por la empresa norteamericana AquaBounty Technologies Inc.

La FDA (Food and Drug Administration) de Estados Unidos aprueba en noviembre del 2015 el consumo humano del AquAdvantage®Salmon, las autoridades canadienses los aprueban en mayo del 2016, en ambos países sin requerimiento de etiquetado como alimento transgénico, ya que, a juicio de las autoridades, son indistinguibles biológicamente de los peces no modificados genéticamente. Detalles sobre los pasos legales de la solicitud y aprobación se encuentran en <https://www.fda.gov/animal-veterinary/animals-intentional-genomic-alterations/aquadvantage-salmon-approval-letter-and-appendix>.

AquAdvantage®Salmon incorpora ADN del salmón Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*), una especie de gran envergadura del océano Pacífico, y del pez abadejo *Macrozoarces americanus*, ambos transgenes combinados afectan al funcionamiento de la hormona del crecimiento en *Salmo salar* (Figura 4). Esta alteración permite a los ejemplares de AquAdvantage®Salmon, crecer al doble de velocidad, alcanzando su tamaño mínimo comercial en 18 meses, en vez de los 3 años que se demoran en alcanzar el tamaño comercial sus congéneres sin modificaciones genéticas (Figura 5), consumiendo entre un 20% a un 25% menos de alimento, lo que reduciría su huella ecológica, según AquaBounty Technologies Inc.

AquAdvantage®Salmon se diseñó por vez primera en 1989, aunque los primeros resultados se publicaron hasta 1992, autorizándose su comercialización en el mercado recién en el año 2019, 30 años después de los primeros pasos de la modificación genética en los laboratorios de AquaBounty Technologies Inc.

El desarrollo y perfeccionamiento de las técnicas de introducción artificial de ácidos nucleicos en células y/o núcleos (e.g. vectores virales, microinyección, electroporación, biobalística, entre otros, *Ver página 58* **Técnicas de liberación o transfección de ácidos nucleicos en transgénesis y edición genómica en animales**), hace de los OGMH transgénicos en acuicultura un área de investigación muy fructífera (Tabla 2).

Más adelante se destaca el hecho que con las nuevas tecnologías de edición genómica es posible generar organismos donde se ha incorporado material genético foráneo, categorizándolos algunos países como OGM del tipo transgénicos.

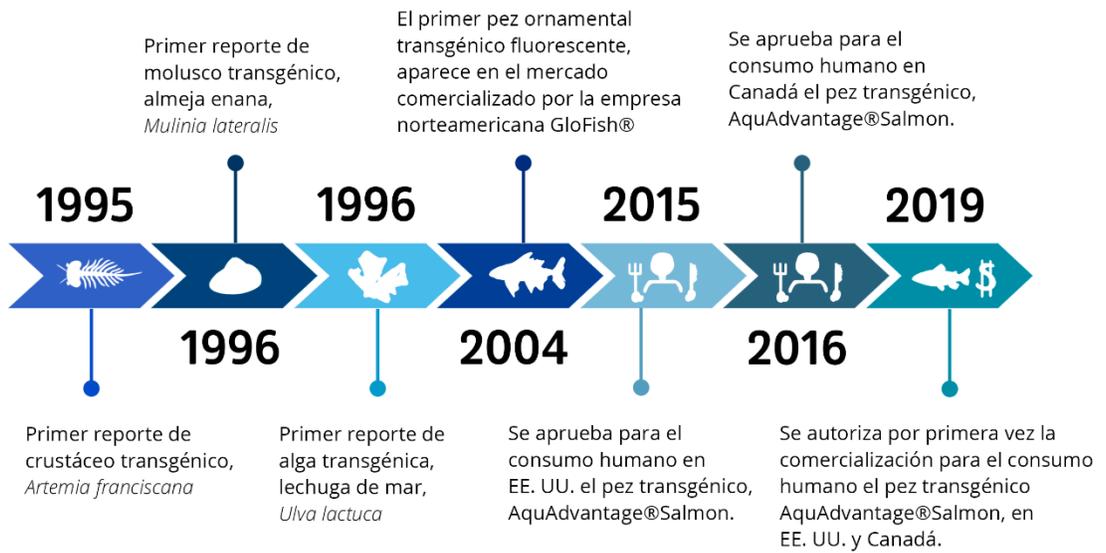
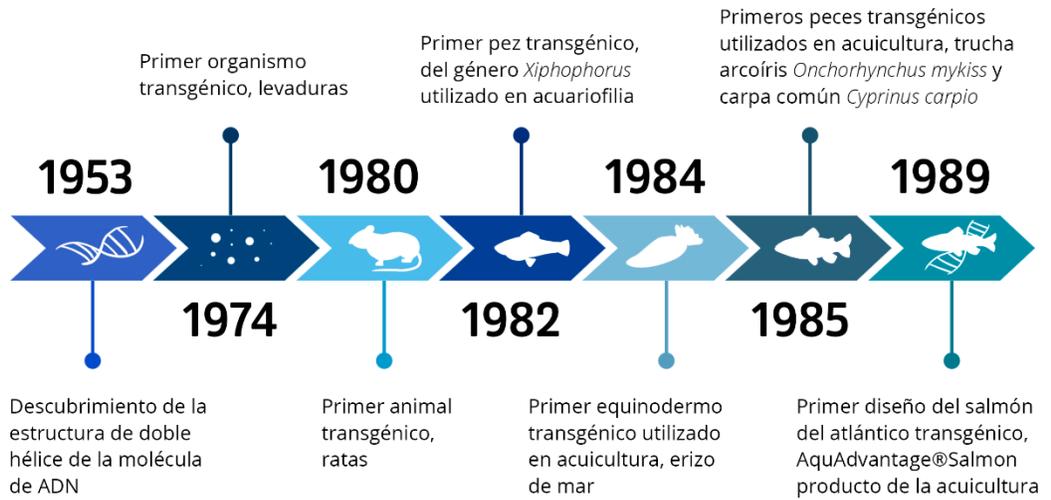


Figura 3. Hitos históricos de la transgenia en el ámbito de la acuicultura. Construcción propia.

Tabla 1. Hitos históricos de transgenia en el ámbito de la acuicultura. Extraído y modificado desde Kapuscinski et al., (2007).

1953	Descubrimiento de la estructura de doble hélice de la molécula de ADN.
1974	Primer organismo OGM transgenico, levaduras
1980	Primer animal OGM transgénico, ratas
1982	Primer pez OGM transgénico, género <i>Xiphophorus</i> utilizado en acuariofilia
1984 - 1985	Primeros peces OGMs transgénicos utilizados en acuicultura, rainbow trout <i>Oncorhynchus mykiss</i> y goldfish <i>Cyprinus carpio</i> , en Reino Unido y China respectivamente.
1984	Primer equinodermo OGM transgénico utilizado en acuicultura, sea urchin
1989	Primer diseño del salmón del atlántico transgénico, AquAdvantage®Salmon.
1992	Publicación formal del diseño del salmón del atlántico transgénico, AquAdvantage®Salmon.
1992	Se reporta la primera demostración de la mejora en el crecimiento del transgénico AquAdvantage®Salmon, Canadá.
1992	Se reporta la transferencia del gen de la proteína anticongelante de <i>Macrozoarces americanus</i> , a AquAdvantage®Salmon. Canadá.
1994	Se reporta el acelerado crecimiento del salmón Coho, <i>Oncorhynchus kisutch</i> utilizando un constructo “all salmon”.
1995	Primer reporte de crustáceo transgénico, <i>Artemia franciscana</i>
1996	Primer reporte de molusco OGMs transgénico, almeja enana <i>Mulinia lateralis</i>
1996	Primer reporte de alga OGMs transgénica, lechuga de mar, <i>Ulva lactuca</i> .
1998	Se reporta por primera vez el rápido crecimiento de tilapia transgénica, expresando un gen del crecimiento de salmón.
2001	Se reporta por primera vez el rápido crecimiento de peces diploides y triploides autotransgénicos, en el cipriniforme mud loach <i>Misgurnus mizolepis</i> .
2004	El primer pez ornamental transgénico, fluorescente, aparece en el mercado, comercializado por la empresa norteamericana Glofish, R.
2015	Se aprueba para el consumo humano en EE.UU. el primer OGM transgénico producto de la acuicultura, el AquAdvantage®Salmon.
2016	Se aprueba para el consumo humano en Canadá el primer OGM transgénico producto de la acuicultura, el AquAdvantage®Salmon.
2019	Se autoriza la comercialización para el consumo humano del primer OGM transgénico producto de la acuicultura, el AquAdvantage®Salmon, en EE.UU. y Canadá.

Tabla 2. Ejemplos de organismos genéticamente modificados transgénicos, utilizados en acuicultura. Extraído y modificado desde Saxena & Jha, 2013, y Rasmussen & Morrissey, 2007.

Species	Foreign gene	Desired effect/results	Status	Country	Reference
Bass, striped (<i>Morone saxatilis</i>)	Insect genes	Disease resistance	Early stages of research	U.S.	(FAO, 2000)
Carp, common (<i>Cyprinus carpio</i>)	Salmon and human GH; rainbow trout GH	20%–150% growth improvement; improved disease resistance; tolerance of low oxygen level	Research and growth trials	China, U.S.	(Zhang et al., 1990; Chen et al., 1992; Fu et al., 1998; FAO, 2000; Maclean & Laight 2000; Dunham et al., 2002a)
	Grass carp GH and common carp β -actin promoter	Increased growth in only 8.7% of transgenic fish; no harmful effects to mice fed transgenic fish	Research	China	(Zhang et al., 2000; Wang et al., 2001)
	Antisense-GnRH mRNA	Sterility 30% of injected fish did not develop gonads	Early research phase, pilot Studies	China	(Hu et al., 2006)
Carp, grass (<i>Ctenopharynx-Godonidellus</i>)	hLF	Increased disease resistance to bacterial pathogen	Research phase	China	(Mao et al., 2004)
	hLF + common carp β -actin promoter	Increased disease resistance to grass carp hemorrhage virus			(Zhong et al., 2002)
Carps, Indian major	Human GH	Increased growth	Research phase	India	(FAO, 2000)
Carp, Indian major (<i>Labeo rohita</i>)	Carp GH + CMV promoter + internal ribosomal entry sites element	4-to 5-fold growth increases compared to controls, but 99% mortality by wk 10	Research phase	India, U.S.	(Pandian & Venugopal 2005)
Catfish, channel (<i>Ictalurus punctatus</i>)	GH	33% growth improvement in culture conditions	Research phase	U.S.	(FAO, 2000)
	GH + Rous sarcoma virus promoter	Some increased growth rates (23–26%), some normal growth rates	Research and growth trials		(Dunham et al., 1992; Maclean & Laight 2000)
	Silk moth (<i>Hyalophora cecropia</i>) <i>cecropin</i> genes	Bactericidal activity, increased survival when exposed to pathogens	Research phase		(Dunham et al., 2002b; Dunham, 2005)
Charr, Arctic (<i>Salvelinus alpinus</i> L.)	Sockeye salmon GH + human CMV (also tried sockeye piscine metallothionein B and histone3 promoters)	14-fold weight increase after 10 mo; CMV promoter resulted in greatest weight increase, with no difference in muscle composition compared to controls	Research phase	Finland	(Krasnov et al., 1999; Pitkanen et al., 1999b)
Goldfish (<i>Carassius auratus</i>)	GH + Arctic flatfish AFP	Increased growth	Research phase	China	(FAO, 2000)
	Ocean pout type III AFP Human GH	Increased cold tolerance Increased growth			(Wang et al., 1995) (Zhu et al., 1985)

Medaka, Japanese (<i>Oryzias latipes</i>)	Insect cecropin or pig cecropin-like peptide genes + CMV	Enhanced bactericidal activity against common fish pathogens; germline transmission	Research phase	U.S.	(Sarmasik et al., 2002)
	<i>Aspergillus niger</i> phytase gene + human CMV or sockeye salmon histone type III promoter	Ability to digest phytate, the major form of phosphorus in plants; increased survival on high phytate diet			(Hostetler et al., 2003)
Mud loach (<i>Misgurnus mizolepis</i>)	Mud loach GH + mud loach and mouse promoter genes	Increased growth and feed conversion efficiency; 2-to 30-fold growth enhancement; 100% germline transmission	Research phase	China, South Korea	(FAO 2000; Nam et al., 2002; Kapuscinski, 2005)
Loach (<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>)	Human GH	3-to 4.6-fold increase in growth over 135 d	Research	China	(Zhu et al., 1986)
Pike, northern (<i>Esox lucius</i>)	Bovine GH or chinook salmon GH	Growth enhancement	Research phase	U.S.	(Gross et al., 1992)
Sea bream, red (<i>Pagrosomus major</i>)	Chinook salmon GH + ocean pout AFP gene promoter	9.3% increase in length and 21% increase in weight after 7 mo	Research phase	China	(Zhang et al., 1998)
Sea bream, silver (<i>Sparus sarba</i>)	Rainbow trout GH + common carp β -actin promoter	Increased growth; successful use of sperm- and testis-mediated gene transfer techniques	Research phase	China	(Lu et al., 2002)
Salmon, Atlantic (<i>Salmo salar</i>)	Arctic flatfish AFP	Cold tolerance	Research phase, trying to achieve freeze resistance	U.S., Canada, Newfoundland	(Fletcher et al., 1992, Hew et al., 1995; FAO, 2000)
	Chinook salmon GH	Greater feed efficiency; 2-to13-fold growth increase; inheritance through 6 generations	Patented and licensed to Aqua Bounty Technologies, currently under regulatory review for commercial use	U.S., Canada	(Du et al., 1992; Fletcher et al., 1992, 2004; Hew et al., 1995; Cook et al., 2000; FAO, 2000; Kapuscinski, 2005)
	Rainbow trout lysozyme gene + ocean pout AFP promoter	Bacterial resistance is desired, but no results have been reported	Early research stages	Canada	(Hew et al., 1995)
	Mx genes	Potential resistance to pathogens following treatment with poly I:C	Early research stages	Norway	(Jensen et al., 2002)
Salmon, chinook (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>)	Arctic flatfish AFP + salmon GH	Enhanced growth and feed efficiency	Research phase	New Zealand	(FAO, 2000)

Salmon, coho (<i>Oncorhynchus kisutch</i>)	Arctic flatfish AFP + chinook salmon GH	10-to 30-fold growth increase after 1 y	Research phase	Canada	(Devlin et al., 1995; FAO 2000)
Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Chinook salmon GH with ocean-pout type III AFP promoter	Increased growth (2.5–4x) and 20% greater feed conversion efficiency; germline transmission; no organ growth abnormalities	Research and growth trials have been carried out, now seeking regulatory approval	Canada, United Kingdom	(Rahman & Maclean 1998; Maclean & Laight 2000; Rahman et al., 2001; Caelers et al., 2005)
Tilapia (<i>Oreochromis</i> sp.)	Tilapia GH + human CMV	Increased growth and feed conversion efficiency (290%); stable inheritance		Cuba	(Martinez et al., 1996, 2000; FAO, 2000; Kapuscinski, 2005)
Tilapia, Nile (<i>O. niloticus</i>) and Tilapia, redbelly (<i>Tilapia zillii</i>)	Shark (<i>Squalus acanthias</i> L.) IgM genes	Enhanced immune response and growth; abnormal gonad development at high doses	Research phase	Egypt	(El-Zaeem & Assem 2004; Assem & El-Zaeem 2005)
Trout, cutthroat (<i>Oncorhynchus clarki</i>)	Arctic flatfish AFP + Chinook salmon GH	Increased growth	Research phase	Canada	(FAO, 2000)
Trout, rainbow (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Arctic flatfish AFP + salmon GH	Increased growth and feed efficiency	Research phase	U.S., Canada	(FAO, 2000)
	Human glucose transporter + rat hexinose type II with viral or sockeye salmon promoters	Improved carbohydrate metabolism		Finland	(Pitkanen et al., 1999a; Kapuscinski, 2005)
Zebrafish (<i>Danio rerio</i>)	Masu salmon n-6-desaturase-like gene + medaka β -actin promoter	Increased ability to convert ALA to DHA and EPA	Research phase	Japan	(Alimuddin et al., 2005)
	Antisense salmon GnRH + common carp β -actin promoter	Sterility in 30% of injected eggs	Research phase	China	(Hu et al., 2006)
	Cre recombinase driven by T7 promoter + fluorescent protein flanked by two loxP sites crossed with T7 RNA Polymerase (gonad specific)	Gonad-specific excision of foreign (fluorescent protein) gene	Research phase	China	(Hu et al., 2006)

	4 Japanese flounder (<i>Paralichthys olivaceus</i>) promoters (complement component C3, gelatinase B, keratin and tumor necrosis factor) linked to GFP	Tissue-specific GFP (<i>Green Fluorescent Protein</i>) gene expression: complement component C3 in liver, gelatinase B in pectoral fin and gills, keratin in skin and liver, and tumor necrosis factor in pharynx and heart	Ready for use in transgenic Research	Japan	(Yazawa et al., 2005a)
Abalone (species name not given)	Coho salmon GH + various promoters	Increased growth	Research phase	U.S.	(FAO, 2000)a
Clams, dwarf surf (<i>Mulina lateralis</i>)	Retroviral insertion	Successful gene transfer method for use as a model ("guinea pig") species	Retroviral insertion method is patented	U.S.	(Lu et al., 1996; Burns & Chen 1999; Kapuscinski, 2005)
Crayfish (<i>Procambarus clarkii</i>)	Replication-defective pantropic retroviral vector	Successful transformation of immature gonads; germline transmission	Research phase	U.S.	(Sarmasik et al., 2001)
Oysters (species name not given)	Coho salmon GH + various promoters	Increased growth	Research phase	U.S.	(FAO, 2000)
Oyster, eastern (<i>Crassostrea virginica</i>)	Aminoglycoside phosphotransferase II (neor)	Increased survival rates when exposed to antibiotics	Research phase	U.S.	(Buchanan et al., 2001)
Shrimp	IHHNV promoters	Functional for use in gene transfer; potential use in expression vectors	Research phase	U.S.	(Dhar et al., 2005; 2006)
Shrimp (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	Antisense TSV-CP + shrimp (<i>Penaeus vannamei</i>) β -actin promoter	Stable expression; no biological abnormalities; increased survival (83% vs. 44% in controls) when challenged with TSV	Research phase	U.S.	(Lu & Sun 2005)
Shrimp, black tiger (<i>Penaeus monodon</i>)	Kuruma prawn EF-1 α promoter + GFP gene or CAT gene	Ubiquitous expression of GFP/CAT	Research phase	Japan, Thailand	(Yazawa et al., 2005b)
Atlantic Salmon	AFP-salmon GH	Cold tolerance, Increased growth and feed efficiency		Canada	Saxena & Jha, 2013
Coho Salmon	AFP-chinook salmonGH	Increased growth		Canada	Saxena & Jha, 2013
Chinook Salmon	AFP -salmon GH	Increased growth and feed efficiency		New Zealand	Saxena & Jha, 2013
Rainbow Trout	AFP -salmon GH	Increased growth and feed efficiency		Canada	Saxena & Jha, 2013
Cutthroat Trout	AFP -chinook Salmon GH	Increased growth		Canada	Saxena & Jha, 2013
Tilapia	AFP -salmon GH	Increased growth and feed efficiency		Canada, UK	Saxena & Jha, 2013
Tilapia	CMV-tilapia GH	Increased growth		Cuba	Saxena & Jha, 2013
Tilapia	Tilapia insulin gene	Production of human insulin		Canada	Saxena & Jha, 2013
Salmon	Rainbow trout lysozyme, flounder pleurocidin	Disease resistance		U.S.	Saxena & Jha, 2013

Striped Bass	Insect cecropin	Disease resistance		U.S.	Saxena & Jha, 2013
Mud Loach	Loach and mouse MT -Mud loach GH	Increased growth and feed efficiency		China, Korea	Saxena & Jha, 2013
Channel Catfish	RSVLTR-GH	Increased growth		U.S.	Saxena & Jha, 2013
Common Carp	Salmon and human GH	Increased growth, disease resistance, tolerance of low dissolved oxygen		China, U.S.	Saxena & Jha, 2013
Indian Major Carps	Human GH	Increased growth		India	Saxena & Jha, 2013
Goldfish	AFP-GH	Increased growth		China	Saxena & Jha, 2013
Abalone	Various promoters coho salmon GH	Increased growth		U.S	Saxena & Jha, 2013
Oysters	Various promoters coho salmon GH	Increased growth		U.S	Saxena & Jha, 2013

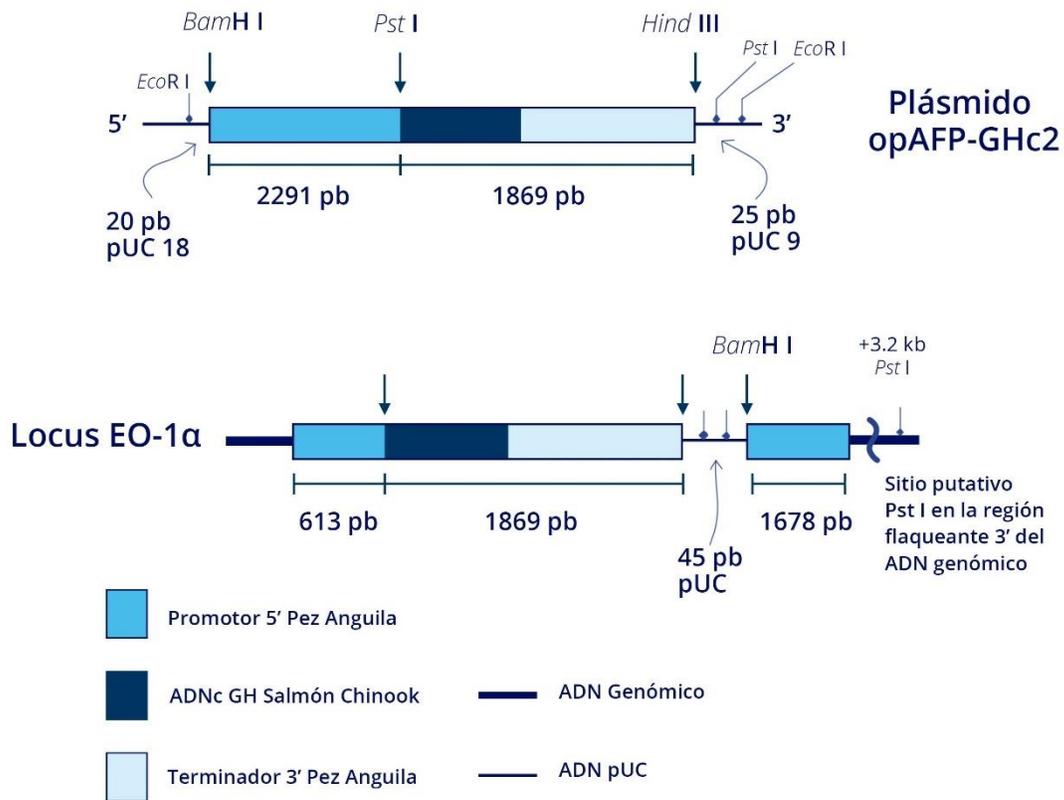


Figura 4. Transgen insertado en el Salmon del Atlántico, *Salmo salar*, por AquaBounty Technologies Inc. Características físicas del transgen microinyectado utilizando como vector el plásmido bacteriano pUC18 (plásmido opAFP-GHc2), y el transgen integrado (EO-1α locus) en el genoma del Salmon del Atlántico. Extraído desde Science Response 2013/023. El transgen contiene un plásmido bacteriano, el ADN complementario del gen de la hormona (GH; Growth Hormone) del crecimiento de Salmon Chinook, *Oncorhynchus tshawytscha*, como gen objetivo, siendo su expresión regulada por un promotor y regiones terminales provenientes del gen de la proteína anticongelante (AFP; Anti-Freeze Protein) del pez oceánico *Macrozoarces americanus*. Este constructo es microinyectado en huevos fertilizados de Salmon del Atlántico. El ciclo productivo del AquAdvantage®Salmon es de 16 a 18 meses, la mitad del tiempo requerido para los ejemplares no modificados genéticamente. Como una medida para limitar su propagación en el medio natural en casos de escape desde los centros de cultivo, todos los ejemplares de AquAdvantage®Salmon son hembras triploides estériles.

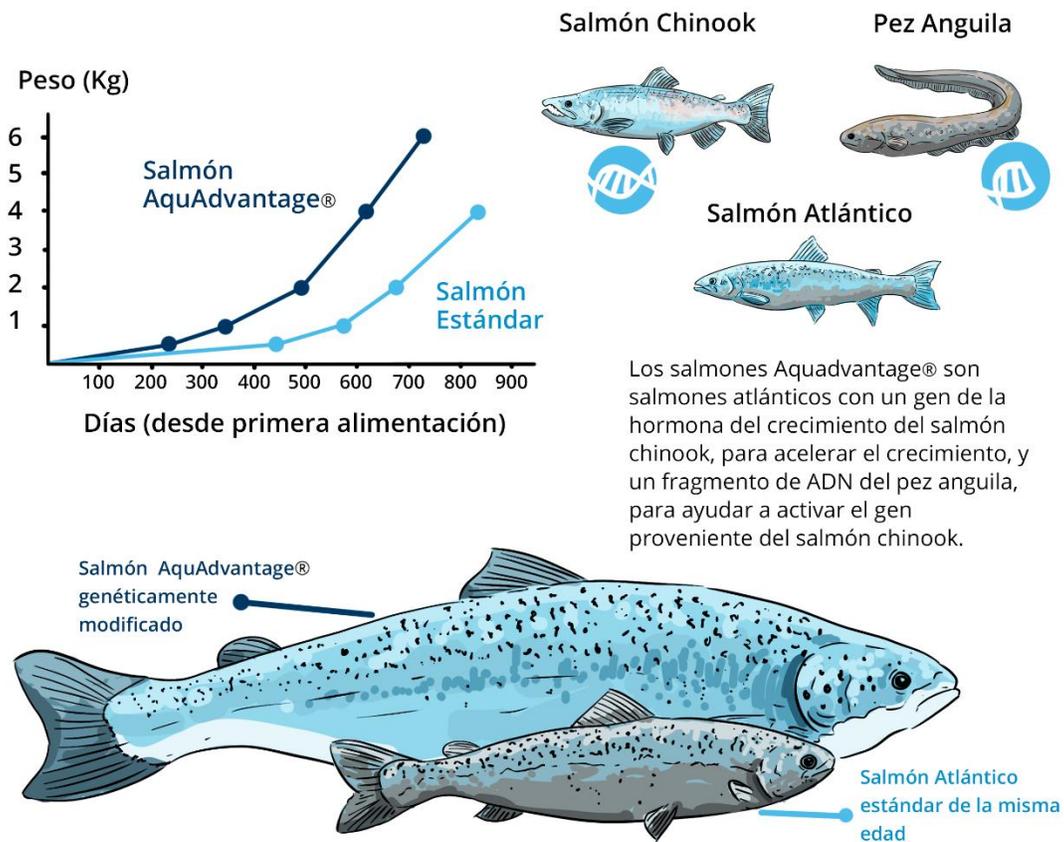


Figura 5. AquAdvantage®Salmon. Salmón del Atlántico transgénico, *Salmo salar*, desarrollado por la empresa norteamericana AquaBounty Technologies Inc. Figura extraída y modificada desde <https://www.youtube.com/watch?v=oyb3c9qbbK0>, y <https://aquabounty.com>.

Técnicas de edición genómica ó mutagénesis dirigida por nucleasas específicas (SiteDirected Nucleases, SDNs)

Después del descubrimiento de la estructura de doble hebra de la molécula de ADN en 1953, variadas plataformas de secuenciación de ADN, y herramientas de nanotecnología han hecho posible la manipulación del genoma a varios niveles, y en diversos tipos de organismos. Esto ha permitido llegar a técnicas capaz de microeditar el ADN objetivo, lo que conlleva modificaciones del ARN mensajero y post transcripcionales, alterando la expresión génica por el comportamiento funcional de las proteínas. Producto de esta microedición, se puede observar una subexpresión, sobre expresión o simplemente un producto proteico alterado.

Desde un punto de vista holístico, las técnicas de edición genómica implican múltiples interacciones receptor-ligador, y el ingreso a la célula por variadas técnicas como la lipofeccion, sonificación y transfeccion, entre otros (*Ver página 58 **Técnicas de liberación o transfección de ácidos nucleicos en transgénesis y edición genómica en animales***). Estas técnicas además son variables en términos de su especificidad, sensibilidad, efectos fuera del ADN objetivo, costos, y expertise de la técnica.

Describimos las principales técnicas de edición genómica disponibles, realizando comparaciones, identificando nuevas versiones, y aspectos bioéticos relacionados con las mismas.

En palabras sencillas, la edición genómica reconoce una secuencia de N nucleótidos en el genoma, donde corta y edita (elimina o inserta) un sitio objetivo, para luego reparar el sitio de corte utilizando mecanismos naturales de reparación de la célula.

En palabras más técnicas, la edición genómica es un tipo de ingeniería genética donde se manipula directamente (mutaciones controladas o dirigidas) el genoma, donde el ADN de una célula es modificado ya sea eliminándolo, insertando o reemplazando alguna secuencia de interés en el genoma de un organismo. Para este fin, se utilizan enzimas del tipo nucleasas, denominadas “tijeras moleculares”, que son enzimas que hidrolizan o catalizan la doble cadena de ADN y en un sitio específico del genoma, generando un quiebre de la doble hebra. Las nucleasas se componen de dos partes: la proteína nucleasa que corta el ADN y otra parte dirigida al ADN, la cual está diseñada para guiar a la enzima a una secuencia específica de ADN. Por lo general se

trata de una molécula de ARN mensajero complementario u homólogo a la secuencia de ADN objetivo, llamado comúnmente ARN guía.

Después de cortar el ADN en un lugar específico por acción de las nucleasas, la célula naturalmente reparará el corte, siendo esta etapa clave en la edición genómica, debido a los resultados que puede tener el proceso de reparación de la doble hebra de ADN cortada, Figura 6. Producto de la edición genómica tres resultados se pueden dar como producto de la reparación del corte de la hebra de ADN: reparación con ADN no homólogo (Figura 6 Caso a), reparación con ADN homólogo (Figura 6 Caso a), reparación con ADN no homólogo foráneo (Figura 6 Caso b), categorizándose generalmente este último caso como una tecnología para generar organismos transgénicos (Sprink et al., 2016). Más adelante se desarrolla en detalle las técnicas de edición genómica.

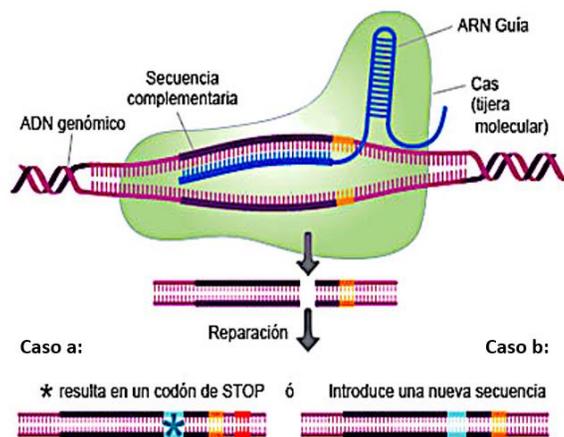


Figura 6. Esquema general del proceso de edición genómica, con las variantes de resultados del proceso de reparación del ADN. Se corta la doble hebra de ADN por acción de la nucleasa Cas, como parte de la edición genómica por medio de la técnica CRISPR/Cas. Se destacan los elementos básicos de la edición genómica: ADN genómico objetivo, ARN guía con secuencia complementaria al ADN objetivo para reparar el quiebre de la hebra de ADN, la nucleasa Cas llamada “tijera molecular”. Extraído y modificado desde <http://webs.ucm.es/BUCM/blogs/Botaybata/11753.php#.XcDQvZpKiUk>.

Metodologías de edición genómica

Durante los últimos años se han desarrollado variados métodos para la edición del genoma de una manera precisa y ágil, existiendo actualmente más de una decena de técnicas de edición genómica disponibles para ser aplicadas en especies hidrobiológicas, Figura 7. Todas estas técnicas tienen como objetivo editar un gen en particular, y para esto utilizan cuatro vías: edición, inhibición, activación e interrupción permanente de la función de un gen o knock-out.

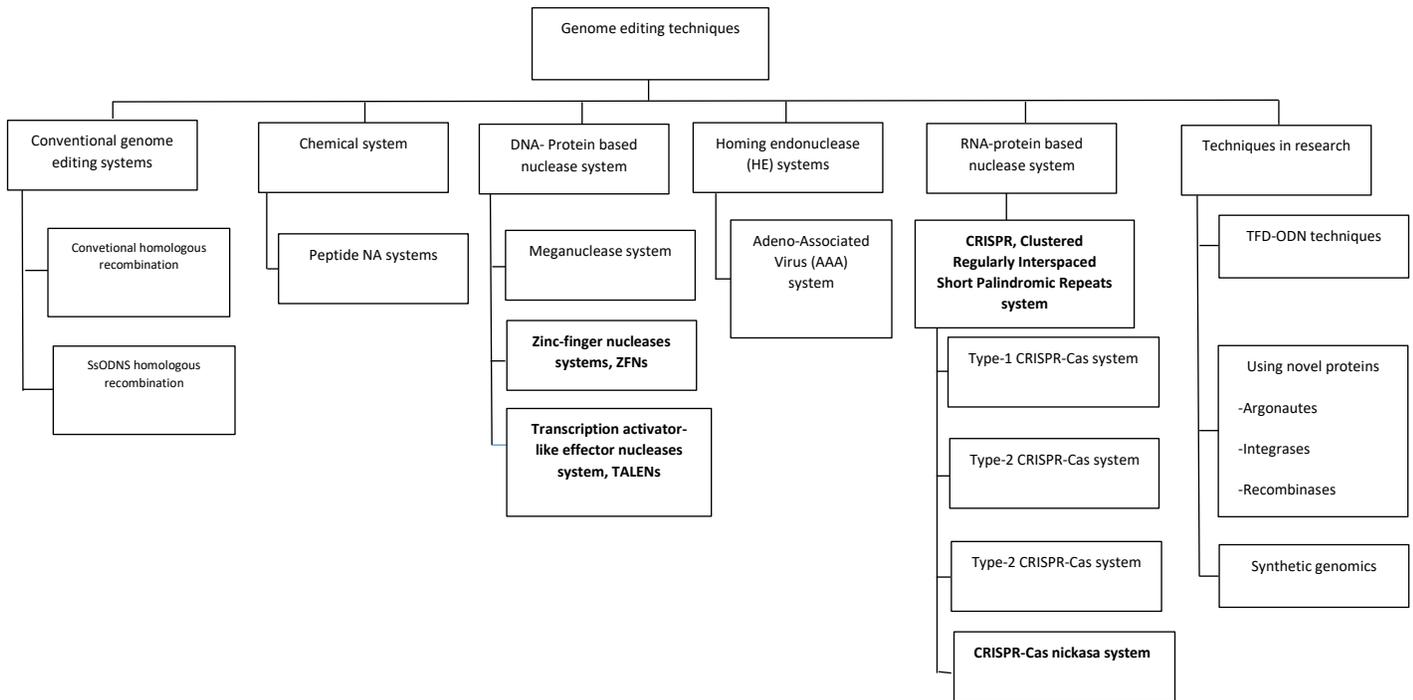


Figura 7. Esquema general de las técnicas de edición genómica disponibles y en investigación. Extraído y modificado desde Khan et al., (2019). En negrita las técnicas que serán descritas en esta revisión.

La búsqueda de las palabras claves “genome-editing technologies” en PubMed entrega un total de 4992 referencias, mostrando una clara evolución hacia el aumento desde 1993 (Figura 8). El análisis de las referencias por técnica indica que para ZFNs (Zinc-finger nucleases; nucleasas con dedos de zinc) se entrega un total de 1025 referencias desde 1993, para TALENs (Transcription activator-like effector nuclease; nucleasa de actividad similar a activador de transcripción) 893 referencias desde el 2010, y para CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic

Repeats; Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Espaciadas) 2840 referencias desde el 2002. La diferencia de 234 referencias la ocupan el resto de las técnicas de edición genómica, ver Figura 9, por ejemplo, las referencias que contienen meganucleasas, sólo son 25. Frente a este primer análisis se decide enfocar la revisión en las técnicas ZFNs, TALENs, y CRISPR en el ámbito de la acuicultura. Se destaca que al utilizar las palabras claves “genome editing technologies aquaculture”, las referencias se reducen a 18, indicando que el paso desde la fase experimental y/o de investigación de las técnicas de edición de genomas, a la actividad de acuicultura no está aún desarrollado.

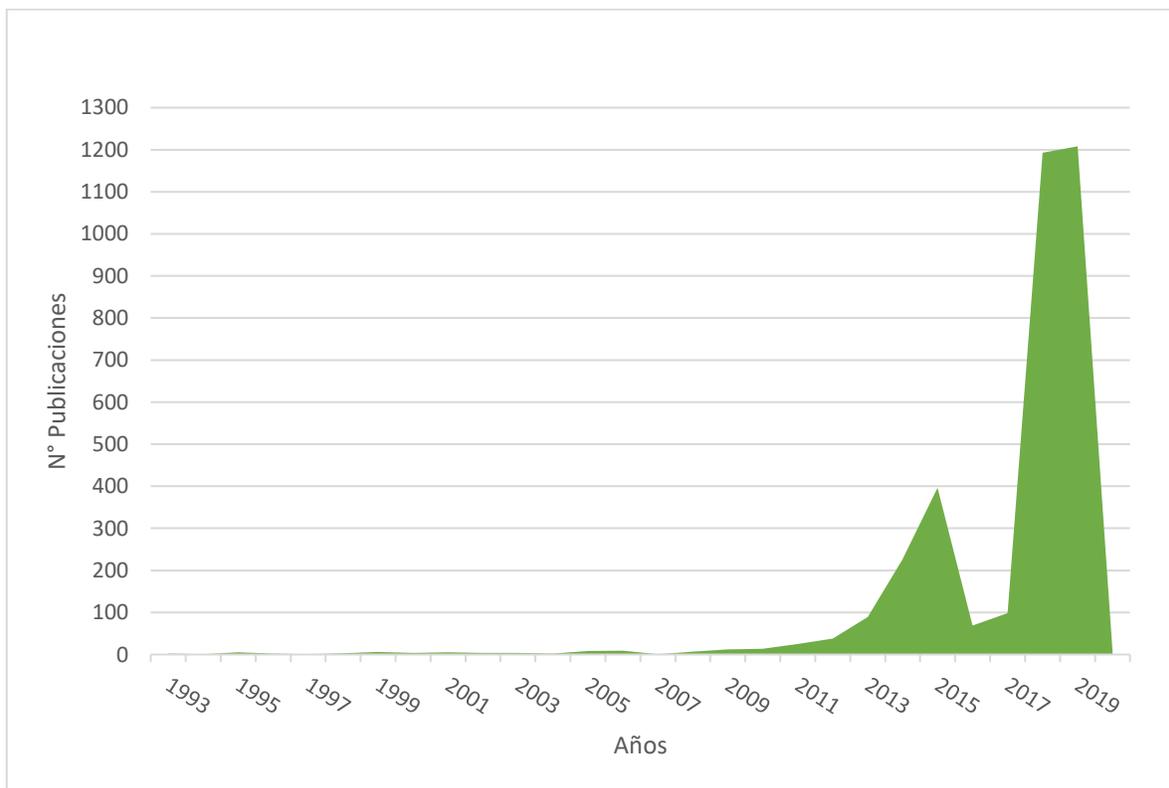


Figura 8. Evolución de las referencias alojadas en PubMed, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>, para el conjunto de técnicas de edición genómica. Palabra clave “genome-editing technologies”.

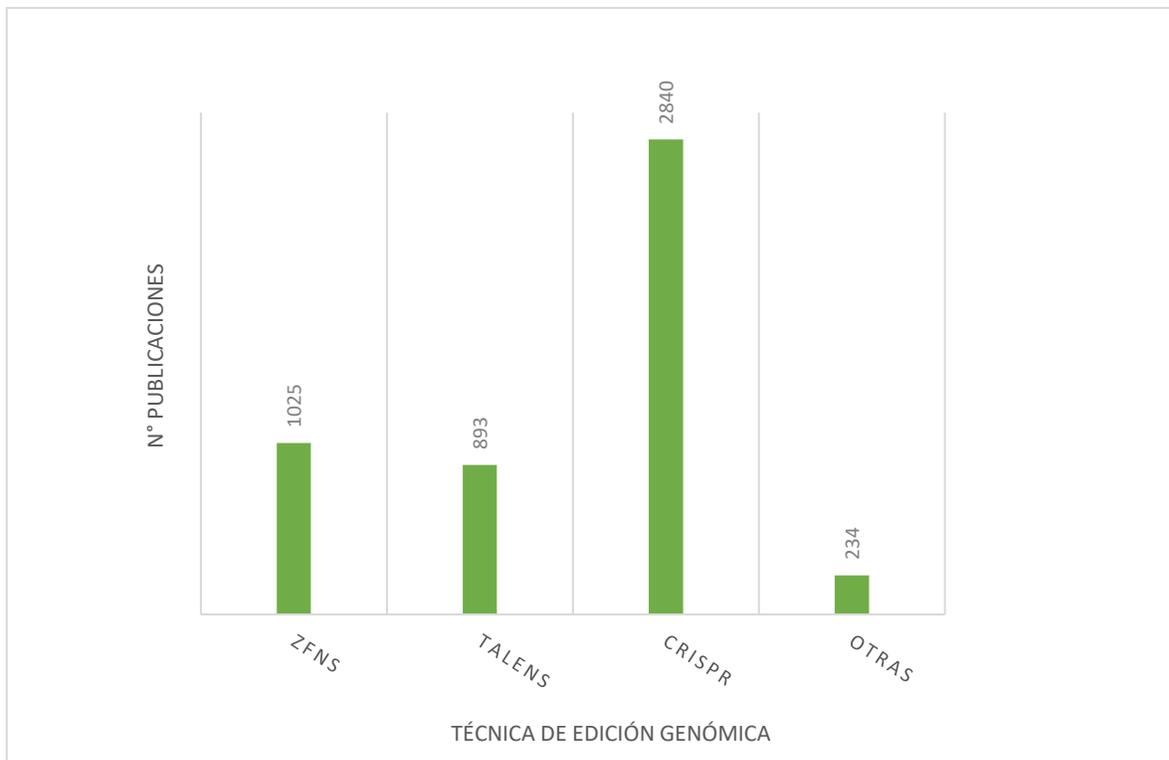


Figura 9. Referencias alojadas en PubMed, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>, para técnicas de edición genómica individualizadas.

Metodologías para la edición genómica: ZFNs, TALENs, y CRISPR

Antes de describir cada metodología, es necesario destacar que todas ellas aprovechan una cualidad que tienen todas las células, la cual consiste en reparar el ADN cuando se rompen las dos cadenas que lo conforman. Las metodologías de edición genómica desarrolladas hasta el momento se basan en la generación de un corte en las dos hebras de la doble hélice del ADN (llamado corte doble cadena, o double strand break, DSB) realizado en forma precisa y dirigida en la región a editar. Este corte es luego reparado por la célula que dispone de dos mecanismos alternativos, los cuales son: la unión de extremos no homólogos o la reparación asistida por plantilla.

Mecanismos de reparación de las cadenas de ADN

Reparación de cadenas de ADN mediante la unión de extremos no homólogos

Este mecanismo es la vía de reparación mas frecuente, y consiste en la unión de extremos no homólogos (sigla en inglés, NHEJ por Non-homologous end-joining), también llamada recombinación no-homóloga. Consiste en la simple unión de los extremos generados y típicamente introduce mutaciones adicionales al generar inserciones o selecciones en la zona de la unión. Lo que hace la célula es pegar a los extremos rotos del ADN unas proteínas específicas, las cuales se unen entre sí para acercar los extremos fracturados y unirlos nuevamente; en caso de que sea necesario, incluso puede añadir nucleótidos extra para reparar la fractura, acción que suele dejar una “cicatriz” ó mutación en el lugar de la unión, Figura 10.

Reparación de cadenas de ADN asistida por plantilla

El segundo mecanismo de reparación se utiliza cuando el cromosoma se rompe, pero existe un segmento adicional de ADN que es idéntico a uno y otro lado de la fractura; la célula utiliza este segmento como guía fiel para reparar el ADN. Esta vía también es llamada recombinación homóloga (sigla en inglés, HR o HDR por Homologous recombination o Homology-directed repair) que puede utilizar como molde la región correspondiente del cromosoma homólogo o una molécula exógena de ADN provista para llevar a cabo la correcta unión de los extremos. El cromosoma así editado es luego heredado por las células hijas, Figura 10.

Aplicación de los mecanismos de reparación en la edición de genoma: el truco de la edición genómica

El mecanismo que se utiliza para editar un genoma es simple en términos conceptuales: primero, se corta el ADN en el sitio deseado con una “tijera” molecular programable (una proteína del tipo nucleasa) y al mismo tiempo se introduce un ADN guía como plantilla para engañar a las células y se utiliza esta plantilla para reparar el daño e introducir así todos los cambios deseados, es decir, mutaciones. El diseño de las tijeras moleculares programables es un triunfo de la ingeniería genética, y se describen en la Figura 11 para cada una de las tres técnicas en revisión. Independiente de la tijera molecular o nucleasa que se utilice, FokI en ZFNs y TALENs, y Cas9 en CRISPR, (Figura 10, Tabla 3), los sistemas alternativos de reparación a utilizar por las células serán los mismos.

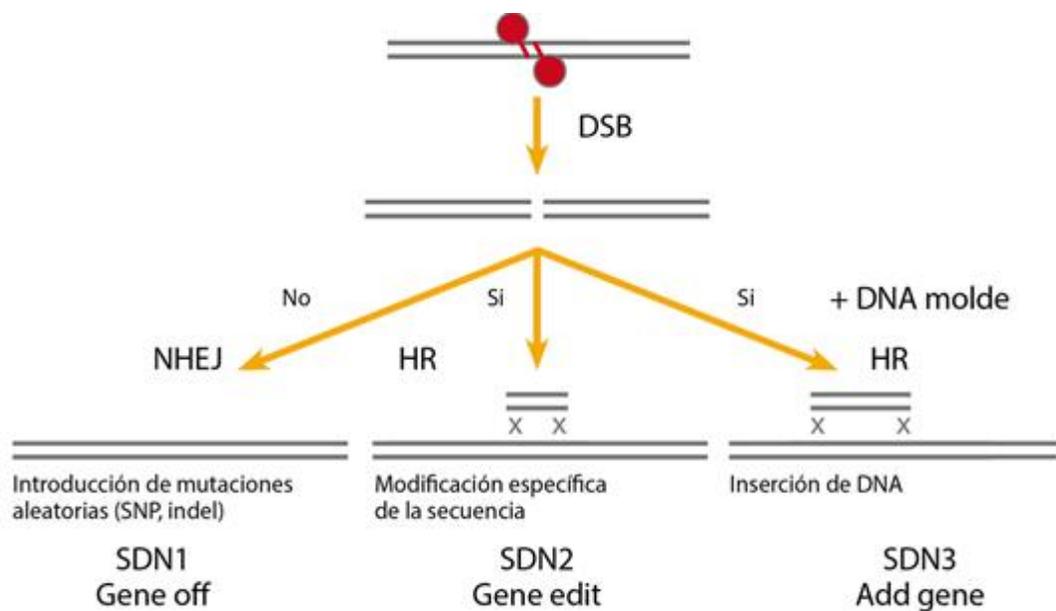


Figura 10. Distintos resultados de la mutagénesis dirigida por nucleasas específicas (SiteDirected Nucleases, SDNs), o técnicas de edición genómica. Después del corte de la doble cadena (double-strand break, DSB) realizado por alguna nucleasa (en rojo), y en ausencia de un DNA que sirva de molde para la reparación, esta se realizará por NHEJ (Non-homologous end-joining), y se introducirán frecuentemente cambios aleatorios en el sitio de corte, mutaciones. Esta utilización de las SDNs se conoce como SDN1 o mutación aleatoria en un sitio predefinido.

Si la reparación se produce en presencia de un DNA molde o plantilla homóloga, la reparación podrá hacerse por recombinación homóloga HR (Homologous recombination). En el caso que el ADN molde contenga cambios específicos en la secuencia, mutaciones, éstos se introducirán en el producto final. Esta utilización de las SDNs se conoce como SDN2 o mutación específica en un sitio predefinido. Si el DNA molde está formado por una secuencia foránea no homóloga (e.g. transgén), flanqueada por secuencias homologas al sitio de inserción, el resultado de la reparación será la introducción de la secuencia externa en el sitio de corte. Esta utilización de las SDNs se conoce como SDN3 o incorporación de una secuencia de ADN en un sitio predefinido. Extraído y modificado desde <https://www.sebbm.es/revista/articulo.php?id=270&url=las-nuevas-herramientas-de-edicion-genomica-y-la-mejora-genetica-de-plantas>

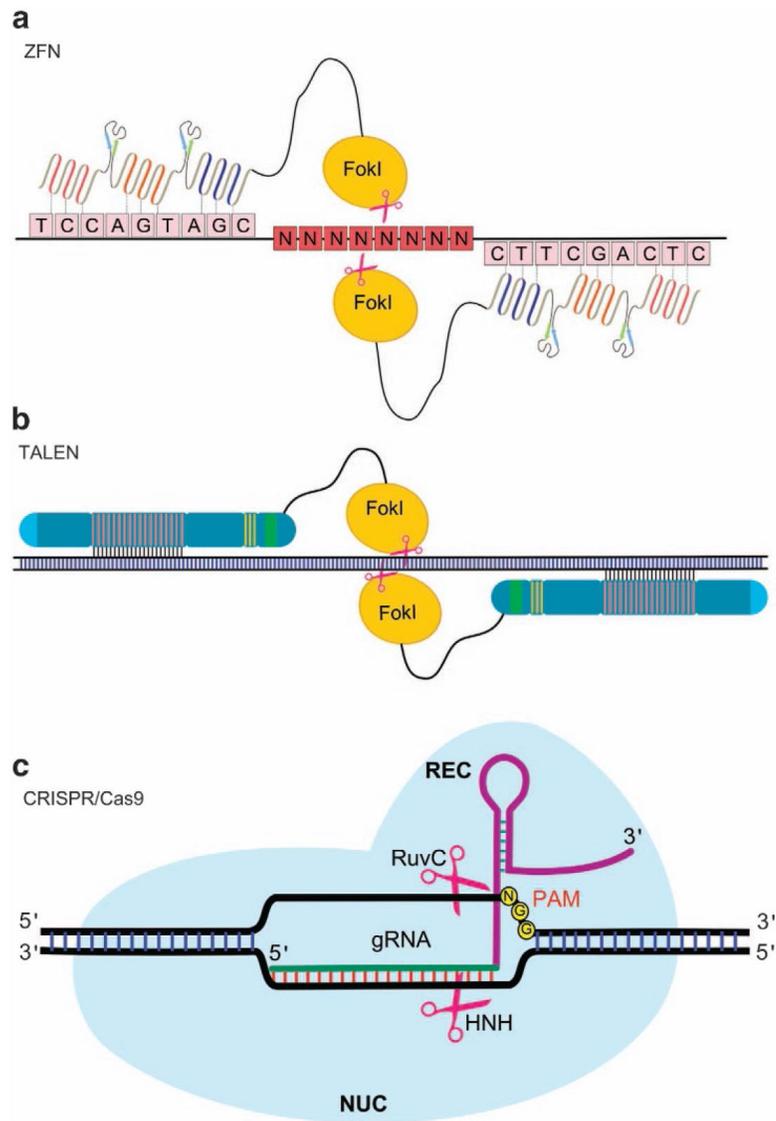


Figura 11. Plataformas de tijeras moleculares; ZFNs, TALENs, y CRISPR/Cas9. **a)** ZFNs tiene dos proteínas hibridas entre los dominios de dedos de zinc, ZF, y el dominio catalítico de la endonucleasa FokI. Cada ZF es capaz de unirse a tres nucleótidos en la secuencia de ADN objetivo. La dimerización del dominio catalítico de la FokI lleva al corte de la doble hebra de ADN (DSBs; double-strand breaks). **b)** TALENs posee un dominio central repetido que puede ser programado o diseñado para unirse a una secuencia definida por el usuario, gen objetivo, conformándose por la nucleasa TAL effector backbone y el dominio catalítico de la FokI. **c)** La tijera molecular de CRISPR/Cas9 tiene dos elementos principales, la endonucleasa Cas9 y la molécula de guía única, que se trata de un ARN mensajero, gRNA. La programación de 20 nucleótidos en el gRNA le confiere una alta especificidad, y selectividad al usuario. La Cas9 corta ambas hebras de ADN dentro de la secuencia que precede el PAM (protospacer-associated motif) el trinucleotido NGG. Extraído y modificado desde Eid & Mahfouz, 2016.

Metodología ZFN

Las nucleasas con dedos de zinc ó ZFN, del inglés zinc-finger nucleases, son enzimas de restricción artificiales creadas a partir de la fusión del dominio dedo de zinc de unión al ADN con un dominio de ruptura, la nucleasa FokI (Kim et al., 1996).

Uno de los dominios de ruptura inespecífica de ADN más empleados en los ZFNs es la enzima de restricción FokI. Este dominio se dimeriza para fragmentar el ADN y, por tanto, son necesarias un par de ZFNs para que reconozcan sitios de ADN no palindrómicos. Las ZFNs estándar fusionan el dominio nucleasa por el extremo C-Terminal de cada dominio dedo de zinc. Para que los dos dominios de ruptura puedan dimerizar y romper el ADN, se deben unir a la hebra de ADN opuesta con su extremo C-terminal a una distancia concreta. La secuencia de unión entre ambos dominios requiere que el extremo 5' de cada sitio de unión esté separado entre 5 y 7 pares de bases.

Se han empleado diversas técnicas de ingeniería de proteínas para mejorar tanto la actividad como la especificidad del dominio nucleasa unida a los dedos de zinc.

Los dedos de zinc pueden ser modificados para reconocer secuencias de ADN específicas en un genoma completo. Aprovechándose de los mecanismos de reparación de la molécula de ADN, mecanismos que ya hemos visto. Se pueden modificar los dedos de zinc de forma que reconozcan una secuencia específica cercana a una mutación de interés, o introducir una secuencia silvestre sin la mutación en la célula. La nucleasa, corta en las dos cadenas de ADN y usa la secuencia de ADN objetivo para la reparación celular. Las ventajas de utilizar las nucleasas con dedos de zinc para la edición genómica, es que se puede reparar la secuencia del gen sin integrar ninguna secuencia extra en el genoma. Sin embargo, también presentan inconvenientes, puesto que probablemente sólo puedan aplicarse en experimentos *ex vivo*, tenga alto poder inmunogénico, activando el sistema inmunitario y produzcan efectos secundarios como por ejemplo la mutación de secuencias que no eran el objetivo, quedando aun por demostrar su inocuidad (Tabla 3, Figura 11).

En trucha arcoiris de cultivo, se ha editado mediante ZFNs el gen *shy*, generando una generación F0 del tipo mosaico (i.e., una generación donde cada individuo posee distintos genotipos para un mismo locus, denominándose mosaicos genéticos) resultando heterocigotos en la

generación F1 con reversión sexual de machos a hembras y viceversa, demostrando el rol del gen *sdy* en la determinación genética del sexo (Yano et al., 2014). En el pez medaka, se ha silenciado el gen *gsdf* mediante ZFN, resultando todos los ejemplares homocigotos hembras (Zhang et al., 2016). Más ejemplos y aplicaciones en Objetivo 2. Los principales pasos para seguir para seleccionar y editar genes en peces se pueden observar en la Figura 12.

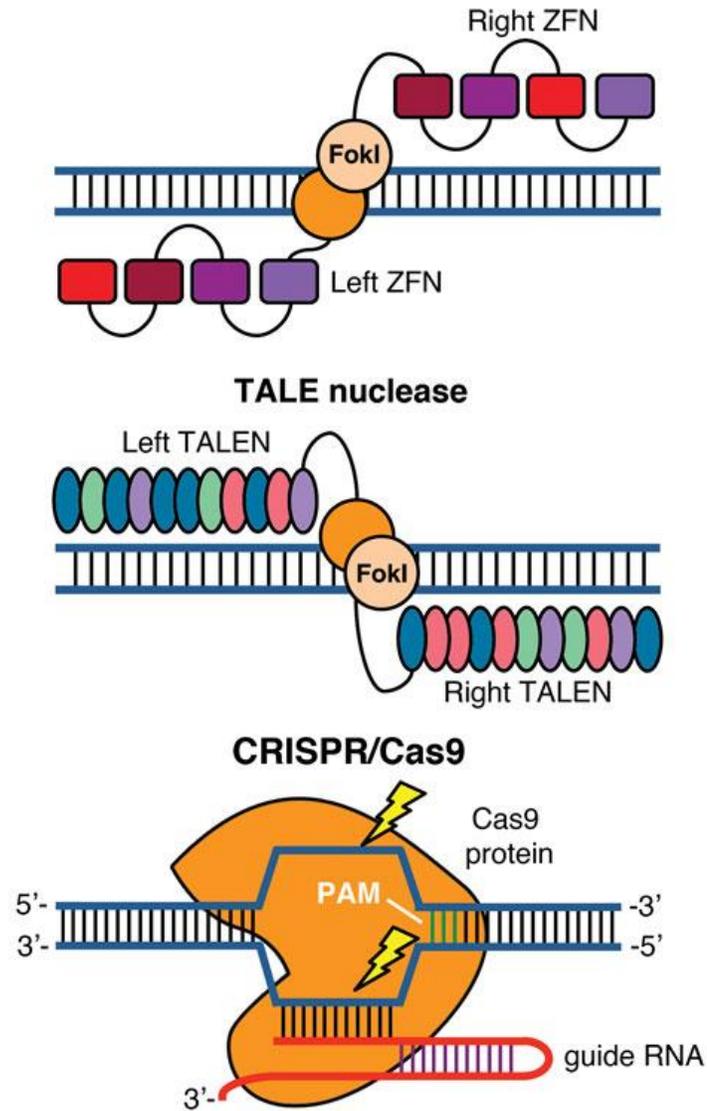


Figura 12. Estructura y modos de reconocimiento de nucleasas de ZFNs, TALENs y CRISPR/Cas9. Extraído y modificado desde <https://www.genengnews.com/magazine/219/comparing-genome-editing-technologies/>

Design appropriate genome editing strategy (ZFN/TALENs/CRISPR-Cas9)

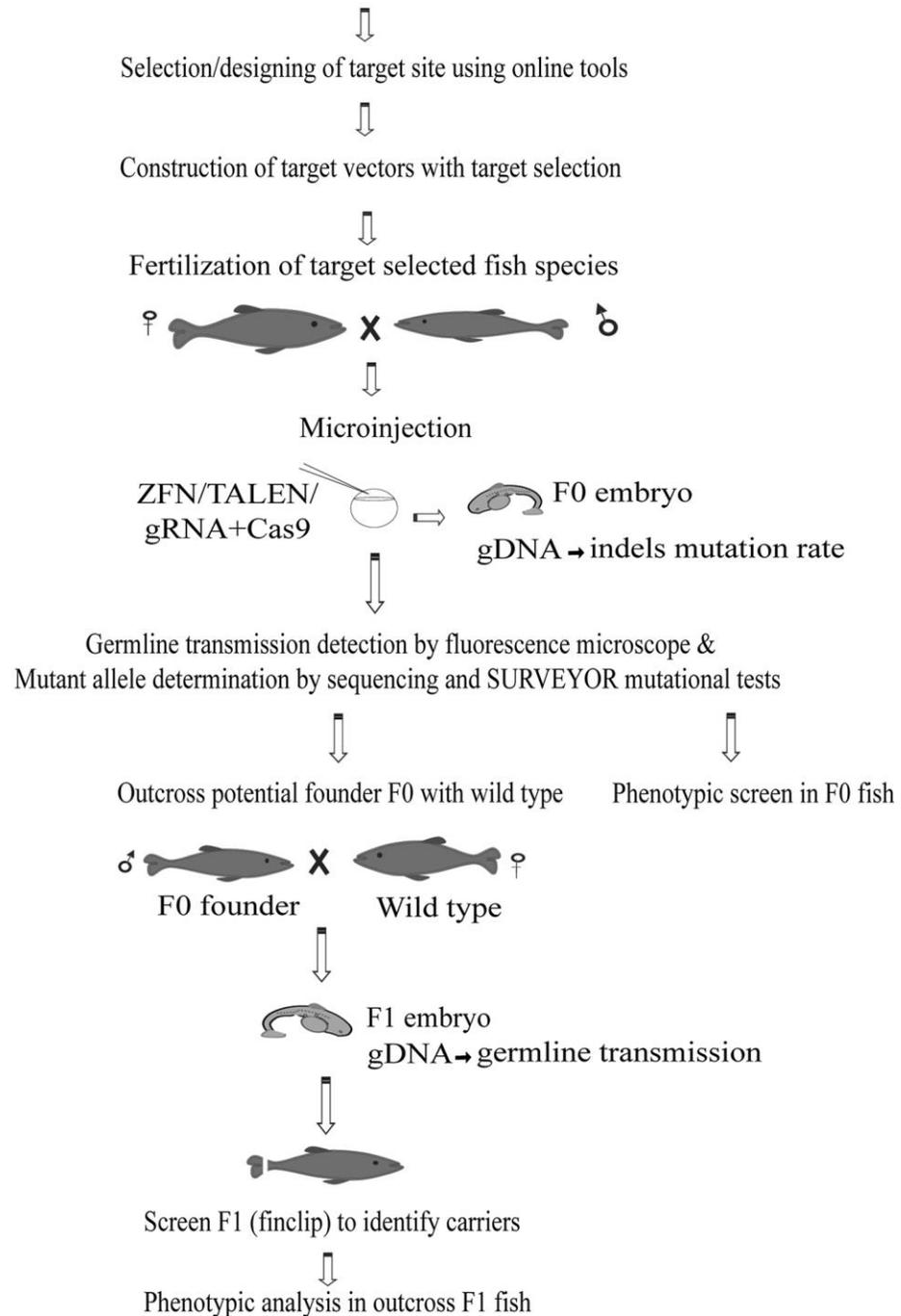


Figura 13. Principales pasos del diseño de modificación genética mediante edición genómica en peces de acuicultura. Selección del ADN objetivo, diseño y construcción del constructo y liberación del constructo en huevos fertilizados de peces. En las siguientes generaciones, a través de métodos de selección individual, familiar u otros, se investiga los efectos de la edición del gen objetivo en el fenotipo.

Metodología TALEN

Las nucleasas activadoras de transcripción, TALEN en sus siglas en inglés de Transcription activator-like effector nuclease, es el nombre de una clase de enzimas de restricción. Su utilidad reside en que se pueden diseñar artificialmente con la finalidad de unirse a una secuencia de ADN seleccionada, y cortarlo en las ubicaciones deseadas (Christian et al., 2010). El proceso consiste en la fusión del dominio de unión al ADN de un efector tipo TAL, con la participación de una nucleasa, una nucleasa FokI. Los efectores TAL, pueden ser también diseñados y contruidos artificialmente.

Los efectores TAL son proteínas secretadas por *Xanthomonas* mediante un sistema de secreción cuándo infectan plantas. El dominio de unión al DNA de TAL contiene una secuencia altamente repetida y conservada de 33–34 aminoácidos que difieren en el aminoácido 12 y 13. Estas dos posiciones, se conocen como el "Repetir Variable Diresidue" (RVD), es altamente variable y muestra una correlación fuerte con el reconocimiento de un nucleótido específico. Esta relación entre secuencia de aminoácido y reconocimiento de ADN ha permitido el diseño de sitios de unión al DNA seleccionando combinaciones de repeticiones, segmentos que contienen los RVDs apropiados. Asimismo, cambios leves en el RVD y la incorporación de secuencias no convencionales de RVD pueden mejorar apuntar especificidad de la técnica TALENs por sobre ZFN, pero no por CRISPR. Ver Tabla 3 y Figura 11 para más detalles y comparaciones.

En cultivos de Zebrafish (*Dario rerio*), se ha editado mediante TALENs el gen de la gonadotropina, *Gnrh3/gnrh3*, silenciándolo (knock-out). Sorprendentemente, la pérdida del alelo *gnrh3* no tuvo efectos sobre la maduración sexual y gametogénesis en ambos sexos, siendo todos los mutantes para *gnrh3* fértiles (Spicer et al., 2016). En contraste, recientes estudios en el pez medaka, reportan que la edición genética mediante knock-out del alelo *gnrh1* genera hembras infértiles, debido a la anovulación (Takahashi et al., 2016). Estas discrepancias podrían ser de interés en estudios de diferenciación de especies.

CRISPR/Cas9

El CRISPR/Cas9, del inglés, Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats associated with Cas9 (Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente interespaciadas asociada con Cas9) es la herramienta de edición genómica más frecuente en la actualidad. La primera descripción de la existencia de las secuencias CRISPR en el genoma de las bacterias se hizo en 1987 por un grupo japonés (Shinagawa et al., 1987). Sin embargo, no fue sino hasta los trabajos del investigador español Francisco Juan Martínez Mojica (Mojica et al., 1993) en los años 1993, 2000 y 2005 el estudio de unas secuencias de ADN repetidas (las secuencias CRISPR) descubiertas en bacterias y en arqueas –que posteriormente se descubrió su relación con el sistema inmunitario de la bacteria para defenderse de los ataques de los virus que las atacan. Finalmente, las genetistas Emmanuelle Charpentier y Jennifer A. Doudna quienes se dieron cuenta que este sistema ancestral de defensa de las bacterias contra la infección por virus podía convertirse en una herramienta para la modificación dirigida del material genético de otros seres vivos (Chylinski et al., 2012). Desde entonces CRISPR se ha convertido en una de las herramientas biotecnológicas más eficaces para modificar el genoma, editar el genoma, de cualquier clase de organismo. El 7 de octubre de 2020 ambas investigadoras obtienen el Premio Nobel de Química por desarrollar las llamadas “tijeras moleculares”, donde la Real Academia de Ciencias define a la tecnología CRISPR como “una revolucionaria herramienta para modificar cadenas genéticas con las que la ciencia espera algún día curar enfermedades hereditarias”.

El sistema CRISPR/Cas9 consta de dos elementos: una pequeña molécula de ARN (la parte CRISPR) que contiene una secuencia complementaria a la secuencia de ADN objetivo, y una nucleasa denominada Cas9, que es una proteína con actividad enzimática capaz de cortar el ADN objetivo y hacerlo solamente donde le indique la pequeña molécula de ARN antes mencionada. Al producir la doble rotura en la molécula de ADN objetivo, entran en acción otras enzimas existentes en las células que reparan el daño producido (NHEJ ó HR), pero que pueden generar errores al insertar o eliminar algunos nucleótidos en el lugar del corte; es decir, se genera una mutación no deseada o planificada en el gen afectado por el corte (NHEJ). Sin embargo, si se añade un tercer elemento al sistema CRISPR/Cas9 consistente en una molécula de ADN que tenga secuencias complementarias a la zona donde se producirá el corte y, además, se incorporan en esta secuencia algunos cambios específicos que no estuvieran en el genoma original, el sistema tenderá a utilizar esta molécula de ADN como molde para restaurar el corte cambiando así el

genoma; es decir, editándolo. El sistema CRISPR/Cas9 y la molécula de ADN consiguen localizar un error y corregirlo en un gen o, viceversa, instaurar una mutación donde antes no lo había, llegando a producir modelos animales experimentales.

En una revisión actualizada del tema, se puede identificar las contribuciones de diversos investigadores al desarrollo de los fundamentos y aplicaciones de la técnica CRISPR/Cas9, hasta llegar a su aplicación a especies hidrobiológicas utilizadas en acuicultura: Extraído y modificado desde Lander (2016).

- Descubrimiento de CRISPR: Francisco Juan Martínez Mojica (1993)
- CRISPR es un sistema inmune adaptativo: F.J.M. Mojica (2005), Gilles Vergnaud (2005), Alexander Bolotin, 2005
- Evidencia experimental de que CRISPR confiere inmunidad adaptativa y utiliza una nucleasa: Philippe Horvath, 2007
- Programando CRISPR: John van der Oost, 2008
- Dianas CRISPR en el ADN: Luciano Marrafini, 2008
- Cas9 es guiada por crRNAs y crea dobles roturas en el ADN: Sylvain Moineau, 2008
- Reconstituyendo CRISPR en un organismo distante: Virginijus Siksnys, 2011
- Estudiando CRISPR in vitro: V. Siksnys, 2012, Emanuelle Charpentier, 2012, Jennifer A. Doudna, 2012
- Edición genómica en células de mamíferos: Feng Zhang (2012, 2013), George Church, 2013
- Programando CRISPR/Cas9 se edita por primera vez el genoma del Salmón del Atlántico, *Salmo salar*, 2014
- Programando CRISPR/Cas9 se edita por primera vez el genoma de la Tilapia, 2014
- Programando CRISPR/Cas9 se edita el genoma de la ostra *Crassostrea gigas*, editando los genes miostatina y twist, como una forma de mejoramiento del crecimiento, 2019.

CRISPR utiliza herramientas de la ingeniería genética distintas a las de TALENs y ZFNs, lo que ha masificado su uso en los laboratorios y su llegada a niveles productivos. Sus principales diferencias técnicas respecto a TALENs y ZFNs radican en que: el diseño o programación de

las nucleasas Cas es mucho más fácil que las FokI, sin necesidad de un diseño específico de nucleasa para cada secuencia de ADN objetivo. CRISPR no es sensible a la metilación (la metilación del ADN es un mecanismo epigenético que controla la expresión de genes en muchos procesos biológicos), y en consecuencia a efectos post transcripcionales que alteren los resultados de la edición genética. Siendo además una técnica multilocus, pudiendo editar varios loci en el mismo experimento. El modo de reconocimiento entre el constructo foráneo y el ADN objetivo es mucho más predecible por la interacción ADN/ARN de CRISPR, disminuyendo de esta forma los efectos fuera del ADN objetivo. Las nucleasas utilizadas en CRISPR, llamadas Cas9 y Cas nickasa (ambas son enzimas endonucleasas de ADN guiadas por ARN), pueden o no inducir quiebres de la doble hebra de ADN, lo que disminuye drásticamente los potenciales efectos fuera del ADN objetivo, los llamados off-target editing o off-target effects, confiriendo a esta técnica una alta especificidad. (Tabla 3, Figura 11).

La técnica CRISPR, en sus versiones usando Cas9 o Cas nickasa, se ha vuelto más accesible la modificación genómica de los organismos, no sólo por las ventajas técnicas frente a otras técnicas de edición genómica (Tabla 3), sino también por la diferencia en consumo de tiempo, de recursos humanos y financieros. Es así que para llevar a cabo una investigación de edición genómica con nucleasas ZFNs implican un costo aproximadamente 20 millones de pesos, con nucleasas TALENs unos ocho millones de pesos, y con CRISPR alrededor de 2.000.000 pesos para un laboratorio de biología molecular instalado.

En Chile, la empresa Thermo Fisher Scientific (<https://www.thermofisher.com/search/results?query=crispr&focusarea=Search%20All>), comercializa todos los productos y servicios relacionados con la técnica; herramientas de diseño de ARNg, ARNm CRISPR, proteínas CRISPR, vectores de CRISPR, bibliotecas de CRISPR, líneas de células CRISPR listas para su uso y manipuladas, tecnología efectora TAL, flujo de trabajo de ingeniería celular, herramientas de análisis y detección, entre otros, lo que hace totalmente factible su utilización en laboratorios chilenos.

Un ejemplo de aplicación de la tecnología CRISPR en especies hidrobiológicas utilizadas en acuicultura, es en el salmón del atlántico, donde recientemente se ha silenciado (knock-out) por CRISPR/Cas9 el gen *dnd* relacionado con la pigmentación. Los peces mutantes de la F0 perdieron totalmente la pigmentación, con una pérdida de células germinales en las gónadas, demostrando la importante función del gen *dnd* en la determinación de las líneas germinales. El

silenciamiento del *dnd*, genera en la F0 peces con ovarios y testículos, pero sin ovocitos o espermatogonias, indicando que la formación de las células germinales es independiente de la diferenciación gonadal (Wargelius et al., 2016). En la sección del objetivo 2 se detallan más ejemplos y aplicaciones, Tabla 5.

Desafíos en la edición de genoma y brechas a considerar

Las técnicas de edición genómica para cualquier área de aplicación, incluida la acuicultura, enfrentan tres desafíos principales, refiriéndonos estrictamente a la técnica:

- Generar el corte de la doble cadena (en inglés DSB double strand break,) en forma eficiente y precisa, es decir en la secuencia que contiene la mutación o en la zona que se desea editar, y únicamente allí. Este desafío plantea uno adicional, que es el desarrollo de técnicas extremadamente sensibles para detectar si se generaron cortes de ADN no deseados (efectos off-target) en otras regiones del genoma.
- Conseguir una reparación correcta del DSB. Esto implica vencer la baja eficiencia de la vía HDR (Homology-directed repair) frente a la vía NHEJ (Non-homologous end-joining) y/o monitorear y seleccionar aquellas células en las que la reparación fue efectuada correctamente.
- Lograr llevar a cabo la edición genómica en un punto del desarrollo lo suficientemente temprano, de forma que todas las células del organismo posean la secuencia editada y no se generen organismos mosaicos, donde algunas células porten la versión corregida o editada del gen, pero otras conserven la versión original del gen. Entendiendo que los individuos mosaicos son aquellos individuos que presentan más de un genotipo para un locus dado. La CRISPR/Cas9 puede dar origen a individuos mosaicos si la edición continua en diferentes estados del desarrollo embrionario, y cada célula editada da origen a diferentes sets de células, órganos o partes de ellos. Esto genera que no todas las células expresen homogéneamente las modificaciones genéticas objetivo, con resultados inesperados en los fenotipos. Esta brecha parece no haber sido superada por la nueva CRISPR/Cas nickasa.

Las primeras dos brechas descritas han sido en gran parte superadas, dada la nueva tecnología de CRISPR, la CRISPR/Cas nickasa o Prime Editing, publicada en la revista Nature en octubre de este 2019 (Alzalone et al., 2019). Esta nueva CRISPR ya no necesita ADN molde para reparar el corte de la nucleasa, y no genera cortes de ADN en ambas hebras, disminuyendo

sustancialmente los resultados azarosos de las múltiples reparaciones de la doble hebra de ADN cortada con CRISPR tradicional. Por otro lado, la tercera brecha, aun no ha sido superada. La técnica CRISPR/Cas nickasa no ha sido ensayada en ninguna especie utilizada en acuicultura.

Técnicas de liberación o transfección de ácidos nucleicos en transgénesis y edición genómica en animales

Independiente de que se trate de técnicas de modificación genética a través de transgénesis o edición genómica, ambas tecnologías necesitan un medio para ingresar el constructo a la célula, al citoplasma y finalmente al núcleo para liberar el constructo de ADN diseñado (Sato et al., 2016).

Para esto existe un conjunto de técnicas de liberación de ácidos nucleicos que se han desarrollado y perfeccionado desde la década de los 80', entre esta encontramos:

- Liberación de constructo de ADN vía microinyección pronuclear de cigotos o huevos fertilizados
- Liberación de constructo de ADN vía vectores virales como retrovirus, lentivirus y adenovirus
- Liberación de constructo de ADN vía electroporación (electropermeabilización)
- Liberación de constructo de ADN vía transfección liposomal o lipofección (vesículas de lípidos catiónicos)
- Liberación de constructo de ADN vía microinyección en blastocitos
- Liberación de constructo de ADN vía biobalística (disparos de partículas de oro recubiertas de oligonucleótidos)
- Liberación de constructo de ADN vía químicos (mediados por polyethylene glicol)
- Liberación de constructo de ADN vía transferencia de genes mediadas por espermios
- Liberación de constructo de ADN vía conductos deferentes
- Liberación de constructo de ADN vía túbulos seminíferos epidídimo
- Liberación de constructo de ADN vía epidídimo
- Liberación de constructo de ADN vía tejidos ováricos

De las técnicas enunciadas, algunas de ellas son utilizadas con mayor frecuencia en especies hidrobiológicas, siendo el proceso de liberación del constructo de ADN en el genoma de interés un paso clave en el éxito de la modificación genética.

A continuación, se describen las técnicas de liberación o transfección de ADN más utilizadas en especies hidrobiológicas.

Microinyección pronuclear de cigotos o huevos

La microinyección unicelular puede administrar proteínas, péptidos, ADNc o fármacos no difusibles de moléculas grandes directamente en las células penetrando físicamente la membrana celular con una aguja de inyección e inyectando sustancias en las ubicaciones deseadas. Dado que la microinyección es un método de administración física, la sustancia inyectada es teóricamente la única variable independiente en experimentos controlados, con una eficiencia de transducción de las células sobrevivientes a la inyección de casi el 100% (Zhang & Yu, 2008).

La microinyección de ADN purificado, comúnmente conocida como inyección pronuclear, fue utilizada por primera vez por Gordon et al. (1980) en pronúcleos de cigotos para producir ratones transgénicos. Desde entonces, el método se ha perfeccionado siendo altamente reproducible entre laboratorios. Estos se utilizan principalmente para introducir en el genoma un transgén de interés para generar animales transgénicos.

En mamíferos, constructo de ADN, se inyecta en los pronúcleos del embrión, sin embargo, en peces esto no es posible, dado que no se pueden ver los pronúcleos después de la fertilización y algunos huevos de peces son opacos (Chen & Powers 1990, Palmiter et al. 1982). En consecuencia, en el caso de peces, el constructo de ADN se microinyecta en el citoplasma de los huevos fertilizados (Lee et al. 2015).

Por ejemplo, Martin et al. (2016) utilizaron la técnica de microinyección realizaron mutagénesis dirigida a CRISPR / Cas9 y eliminación de ARNi para descifrar la función de los seis genes Hox expresados en la boca y el tronco en desarrollo del anfípodo *Parhyale hawaiensis*. Esto con la finalidad de conocer como evolucionaron de extremidades de crustáceos.

Vectores virales, retrovirus o lentivirus

Los sistemas de administración viral se utilizan como agentes de transferencia de ADN transgénico al infectar los embriones preimplantacionales con vectores virales, como un retrovirus o lentivirus (Jaenish 1976; Stewart et al. 1987; Chan et al. 2001), lentivirus (Lois et al. 2002) o adenovirus (Tsukui et al. 1995;1996).

Los retrovirus se utilizan comúnmente como vector que transporta su material genético en forma de ARN en lugar de ADN (CAST 2007). Su propio material genético se transfiere a la célula, aprovechando su capacidad para infectar las células huésped. La descendencia resultante de este método es quimérica, es decir, no todas las células portan el retrovirus (Kosma 2013).

El gen de interés se construye en un vector viral de replicación defectuosa encapsulado dentro de una envoltura de virus que mejora la eficiencia de transferencia de genes. La infección viral puede alcanzar altos niveles de transducción cuando se usa correctamente. Sin embargo, la elección del virus adecuado, la construcción de un virus recombinante y el empaquetado del virus a menudo es muy laborioso de obtener (Zhang & Yu, 2008).

Actualmente se ha demostrado que los lentivirus pueden superar las limitaciones previas de la transferencia de genes mediada por virus, que incluían el silenciamiento del locus transgénico y bajos niveles de expresión (Follenzi et al. 2000). Por ejemplo, la inyección de lentivirus en el espacio perivitelino de cigotos en porcinos dio como resultado una proporción alta de lechones que portaban y expresaban el transgén.

En equinodermos, los erizos de mar son un buen modelo para los experimentos en biología del desarrollo y la biología de sistemas. Core et al. (2012) explora los retrovirus pantrópicos como una herramienta de transducción para embriones de erizo de mar y demuestra que estos infectan eficientemente a embriones de erizo de mar

Electroporación de embriones y de huevos

La electroporación es la aplicación de pulsos eléctricos cortos que resultan en una permeabilidad mejorada de la membrana celular. La electroporación da como resultado la formación de poros en la membrana celular mediante un pulso eléctrico rápido de alto voltaje; por lo tanto, las proteínas y los ADN extraños pueden ingresar a las células a través de estos poros. Un campo

eléctrico superior a la capacitancia de la membrana celular puede inducir una apertura reversible de la membrana. Las sustancias exógenas entran en el citoplasma a través de esta ruptura del tránsito, ya sea por difusión pasiva o por fuerza electroforética (Neumann et al. 1982; Krassen et al. 2007). Además de las aplicaciones de investigación básica, la electroporación se ha utilizado en terapias clínicas para administrar fármacos a tumores (Gehl 2003). La electroporación se puede utilizar para administrar tanto moléculas pequeñas como grandes, como anticuerpos, dextranos (Glogauer & McCulloch 1992) y ADN (Furuya et al. 2003). Una de las ventajas de la electroporación es que elimina la citotoxicidad provocada por la transfección química o la infección viral.

La electroporación *in vivo* ha demostrado ser un eficaz método para entregar plásmidos de expresión a un gran número de células en diferentes regiones del sistema nervioso en desarrollo en embriones y adultos de pez cebra y también se ha utilizado para estudiar la ganancia o pérdida de función en varios tejidos (Cerdeña et al. 2006, Kera et al. 2010, Rao et al. 2008, Teh et al. 2003).

Biobalística (particle bombardement)

La biobalística o biolística es un método para el suministro de ácido nucleico a las células mediante bombardeo de partículas a alta velocidad. Este método también se conoce como bombardeo de micropartículas, o simplemente microbombardeo. La técnica utiliza partículas recubiertas de ácido nucleico impulsadas por una pistola presurizada (pistola de genes) para transfectar células u orgánulos. También se puede utilizar para administrar vacunas (Lacroix & Citovsky 2020).

La primera demostración del uso de microproyectiles de alta velocidad para administrar ácidos nucleicos exógenos en células vivas, se realizó a fines de la década de 1980 en el laboratorio de JC Sanford en la Universidad de Cornell (Klein et al. 1987).

Desde entonces, el enfoque biolístico ha demostrado ser útil para la producción de plantas transgénicas mediante transformación estable seguida de selección y regeneración de células transformadas, así como para una amplia variedad de estudios que involucran la expresión transitoria de un gen de interés (Taylor & Fauquet 2002; Ueki et al. 2009). Además de las plantas, el microbombardeo se ha utilizado para transferir ADN a muchos otros organismos eucariotas

y procariotas, como bacterias (Smith et al. 1992), algas (Mayfield & Kindle 1990), hongos (Armaleo et al. 1990) y animales (Cheng et al. 1993; Yang & Sun 1995).

Yazawa et al. (2005) probaron con dos métodos de transfección (microinyección y biolística) en el camarón tigre negro *Penaeus monodon*. Los resultados indicaron que la biolística fue el mejor método en donde la tasa de supervivencia de los huevos bombardeados con partículas fue del 60,6% y se encontró que el 0,42% de los embriones tratados eran positivos para GFP (siglás en inglés del gen de la Proteína Verde Fluorescente, *Green Fluorescent Protein*). La expresión ubicua de GFP se observó a partir de las ocho horas posteriores a la fertilización y estos embriones se desarrollaron y eclosionaron normalmente. A diferencia de la microinyección en donde la tasa de supervivencia de los óvulos microinyectados fue del 17,6%

Transformacion bacterial (glass beads agitation-mediated transformation/ PEG-mediated transformation / silicon carbide whiskers -mediated transformation)

Es un tratamiento físico-químico para bacterias. La transferencia de un transgén por transformación, es el proceso mediante el cual las bacterias atrapan ADN libre del medio, y luego, mediante técnicas específicas, ingresan este transgén en ADN objetivo a modificar.

En el caso de la transformación de bacterias, generalmente se introduce el ADN ajeno por microelectroporación o por choque térmico. Durante el choque térmico, las bacterias que serán las hospederas son pre-tratadas con agentes que ocasionan un aumento en su permeabilidad membranal. Entre éstos se encuentran un incremento de temperatura y el uso de iones para cambiar la carga eléctrica de la membrana al recubrir las cabezas polares de lípidos (por ejemplo, los iones Ca^{2+}), lo que disminuye la repulsión de cargas eléctricas entre los fosfatos de los nucleótidos y la membrana y además facilita la entrada del plásmido al interior celular. Las células que han recibido un tratamiento apropiado para llevar a cabo la introducción de material genético se denominan células competentes. Una vez que se introduce el material genético a las células competentes, se disminuye la temperatura y se diluye el calcio, con lo que se restaura la permeabilidad de la membrana. Al colocar a las células en condiciones óptimas de crecimiento se obtienen las células transformantes (Wolska, 2003).

Desde el advenimiento de la tecnología del ADN recombinante, los biólogos han transformado a *Escherichia coli*, en el 'caballo de batalla' de la biología molecular, utilizando procedimientos que

alteran la permeabilidad de la membrana celular (por ejemplo, usando calcio o electroporación), de manera que el ADN pueda introducirse en la célula bacteriana (Chen & Dubnau 2004). Kao & Ng (2017) trabajaron en la regulación de la fosfoenolpiruvato carboxilasa mediada por CRISPRi para mejorar la producción de lípidos en la microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. Los resultados indicaron que la prueba de funcionamiento de CRISPRi en microalgas mostró un 74,4% de mejora en el contenido de lípidos que el tipo salvaje. Adicionalmente, la productividad de los lípidos aumentó un 94,2% más que el tipo salvaje por CRISPRi en la regulación del gen CrPEPC.

Liposomas o lipofección

Esta técnica se basa en la formación de complejos entre lípidos catiónicos y ADN, llamados liposomas. Dicho complejo tiene afinidad por la membrana y permite la entrada del ADN en el citoplasma. La lipofección es una técnica muy efectiva, aunque laboriosa. Se emplea en la introducción de ADN recombinante en las células embrionarias, en el proceso de obtención de animales transgénicos y en la terapia génica (Nakanishi et al. 2002).

Esta técnica se caracteriza por gran sobrevivencia celular. El transgén entra a la célula por medio de un proceso tipo endocitosis donde los liposomas que encapsulan al transgén encuentran a su receptor específico de la membrana celular que interactúa con los microtúbulos (Hasegawa et al. 2001; Lakkaraju et al. 2002).

Existen tres parámetros esenciales que necesitan ser optimizados para poder utilizar cualquier liposoma en la transfección (Wong et al. 1980; Straubiger & Papahadjopoulos 1983). i) Cada tipo celular requiere que se determine una cantidad óptima de ADN en combinación con la concentración del lípido catiónico. ii) Existe una concentración óptima de ADN y lípido para cada tipo de células, con una alta toxicidad en concentraciones elevadas y baja eficiencia en bajas concentraciones. iii) Se requiere la optimización del intervalo de tiempo de la transfección, dependiendo de los reactivos y las condiciones utilizadas, el intervalo de tiempo puede variar entre 1 a 24 horas. Las incubaciones más largas son por lo general más tóxicas.

Han & Zhi-Yong en el año 2013 utilizaron la técnica de transfección liposomal en la especie *Marsupinaeus japonicus*, en donde el objetivo del estudio fue proporcionar información sobre la regulación molecular de la expresión del gen RanGTPase.

Resumiendo: ¿Es lo mismo un organismo modificado genéticamente que un organismo transgénico?

En sentido amplio, un organismo modificado genéticamente es cualquier organismo que tiene su ADN alterado artificialmente. El punto clave de estos organismos está en entender que hay muchas formas de modificar el material genético en función de los resultados esperados.

De manera muy simple podemos encontrar OGMs que pueden presentar un gen que ha sido inactivado para que no realice su función, otros OGMs tienen genes que producen más producto que cualquier variante natural en una población (alelos silvestres), y a otros OGMs se les ha añadido una variante genética extra que no se han producido por procesos naturales de reproducción y recombinación.

Por otra parte, el término transgénico incluye a aquellos organismos a los que se les ha introducido ADN que no pertenece a su genoma original. Por esto, todos los transgénicos son organismos modificados genéticamente. El problema viene cuando se emplean estas dos palabras indistintamente, hecho que es muy común pero no deja de ser incorrecto. Así como podemos decir que todas las enzimas son proteínas, pero no todas las proteínas son enzimas, podemos decir que todos los transgénicos son OGMs pero no todos los OGMs son transgénicos. Esta puntualización, por pequeña que parezca, es muy importante a la hora de regular cada tipo de organismo modificado genéticamente.

¿Es lo mismo un organismo transgénico que un organismo editado genéticamente?

Los conceptos de organismo transgénico y organismo editado genéticamente son conceptos que habitualmente se confunden, y de la confusión derivan los problemas administrativos y legales que se dan a nivel mundial.

Conceptos como el de transgénesis o los transgénicos se usan y aplican en muchas situaciones, y es importante aclararlo. Ya hemos precisado que un organismo transgénico es un organismo al que se le ha introducido ADN que no pertenece a su genoma original.

Ahora bien, las tecnologías de edición genética permiten editar y cambiar a voluntad cualquier base nitrogenada de cualquier gen de cualquier organismo. Por ejemplo, en Tilapia, editando y silenciando (knockout) un gen endógeno (delección de 26 pares de bases) que causa la pérdida de

la función de un regulador negativo del crecimiento muscular, se ha conseguido un aumento en la masa muscular, manifestando un mayor peso y rendimiento del filete en comparación con su contraparte no editada. Esta línea de Tilapia modificada genéticamente se desarrolló utilizando técnicas de edición de genes (SDN1 y SDN2) y no contiene ningún ADN foráneo. Como no se ha insertado ningún gen y lo que se modificó fue la secuencia genética de un gen propio de la especie, en su ubicación natural en el genoma, no tenemos evidencia que justifique su categorización como un organismo transgénico. Esto quiere decir que esta línea de Tilapia editada genéticamente es un organismo genéticamente modificado, más no un organismo transgénico.

Entonces es importante precisar que la edición genética nos permite modificar, a voluntad, cualquier posición de cualquier gen de cualquier organismo, pero que no estamos añadiendo ningún gen externo, por lo tanto, no se trata de transgenia, a menos que se haya generado vía SDN3. En el ejemplo presentado de la Tilapia, se ha modificado algunas bases nitrogenadas del gen de interés, inactivando o silenciando el gen que regula el crecimiento muscular de la Tilapia.

El hecho de que los organismos editados genéticamente sean considerados transgénicos, sin un fundamento científico, trae consigo problemáticas a nivel de legislación y regulación, tanto nacional como internacional, como por ejemplos en la definición de conceptos y en el tratamiento que se puede dar a ambos tipos de OGM.

Entonces es importante precisar en la Ley y sus respectivas normativas que si bien organismos transgénicos y organismos editados genéticamente son organismos genéticamente modificados, organismos transgénicos y organismos editados genéticamente no son lo mismo, y sus claras diferencias deberían verse reflejadas en el contexto legislativo y normativo. Esto no quiere decir que la normativa sea más laxa en uno u otro caso de OGMs, si no que sea adecuada a la técnica, los productos finales de la respectiva modificación genética, y a los protocolos de identificación de los OGMs.

Tabla 3. Comparación de plataformas o prototipos de técnicas de edición genómica. Extraída y modificada desde Khan, 2019 y Eid & Mahfouz, 2016. Sertori et al., 2015. Chen et al., 2014. Rocha-Martins et al., 2015.

Parámetro	ZFN	TALEN	CRISPR/Cas9	CRISPR/Cas nickasa
Año de aparición	1998	2010	2012	2019
Significado sigla en inglés	Zinc-Finger Nucleases	Transcription Activator-Like Effector Nucleases	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats associated with Cas9	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats associated with Cas nickasa
Significado sigla en español	Nucleasas de dedos de zinc	Nucleasas tipo activadores de transcripción	Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente interespaciadas asociada con Cas9	Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente interespaciadas asociada con Cas nickasa
Desafío de ingeniería genética	Diseño o programación de proteínas para cada gen objetivo	Diseño o programación de proteínas para cada gen objetivo	Diseño de una molécula de ARN guía (sgRNA) de 20 nucleótidos para cada gen objetivo	Diseño de una molécula de ARN guía de edición de calidad para cada gen objetivo (pegRNA)
Modo de reconocimiento	Interacción Proteína-ADN, poco predecible	Interacción Proteína-ADN, poco predecible	Interacción ADN-ARN, altamente predecible	Interacción ADN-ARN, altamente predecible
Tipo de nucleasa (nucleasas programables)	FokI	FokI	Cas9	Cas nickasa
La nucleasa induce un corte de doble cadena de ADN (double-strand DNA breaks, DSBs)			Si	No
Se requiere un DNA donador para reparar el templado			Si	No
Motivo de reconocimiento	Zinc finger	Tal effector	RNA guía	RNA prime editing guide
Especificidad o sitio de reconocimiento	18-36 pb (3 pb por finger) 500 pb 9 – 18 pb x 2	40 pb (1 pb por effector) 36 pb 10- 20 pb x 2	20 pb (1 base por base) 8 pb 20 pb	
Tamaño del transferido	~ 1 kb x 2	~ 3 kb x 2	~ 4.2 kb (Cas9) + 0.1 kb (gRNA)	
Reporte de eficiencia	1.6 - 33% 0 – 12%	10 - 98% 0 – 76%	Alcanza el 100% 0 – 81%	
Liberación del constructo en el genoma receptor	Se requieren dos ZFNs alrededor de la secuencia objetivo	Se requieren dos TALENs alrededor de la secuencia objetivo	Se requiere una molécula de sgRNA complementaria a la secuencia objetivo más la proteína Cas9.	
Efecto fuera del objetivo (mutagénesis fuera del objetivo o	Alto, más potenciales	Bajo	Alto, más potenciales efectos que ZFNs y TALENs	Bajo, más bajo que CRISPR/Cas9 tradicional

edición fuera del objetivo)	efectos que TALENs			
Sensitividad a metilación	Sensitiva	Sensitiva	No sensitiva	
Simplicidad del diseño de ingeniería genética	Moderada (ZFNs necesita proteínas personalizadas para cada secuencia de ADN.	Altamente complejo (idénticas repeticiones son múltiples, lo que crea problemas técnicos y de liberación dentro de la célula)	Muy simple (versiones de crARN (gRNA) pueden ser fácilmente diseñadas)	
Factibilidad de la ingeniería genética	Baja	Alta	Altísima	Altísima
Edición múltiple del genoma (multiplexing, multiplexable)	Pocos modelos, raramente usado	Pocos modelos, raramente usado	Muchos modelos disponibles	
Preparación de librerías a gran escala	No hay mucho progreso (se necesita tailoring individual para cada gen)	No hay mucho progreso (se necesita tailoring individual para cada gen)	Progreso demostrado (CRISPR solo requiere de plásmidos que contienen pequeños oligonucleotidos)	
Especificidad	baja	alta	Altísima	Altísima
Eficiencia	normal	normal	Alta	
Costo	bajo	alto	Bajo	
Asequibilidad	Consume mucho tiempo y recursos	Asequible, pero consume tiempo	Altamente asequible	
Aplicable a organismos	Metazoos y vegetales	Metazoos y vegetales	Metazoos y vegetales	

Levantamiento bibliográfico y análisis de literatura científica relacionada con técnicas de edición genómica para especies de interés en acuicultura

Se realizó un levantamiento de información, sistematización, y análisis bibliográfico sobre las diferentes técnicas utilizadas para la generación de OGMH, transgénica y edición genómica a nivel mundial, primero enfocándonos a nivel general, como vegetales, animales, virus y bacterias terrestres y acuáticas, para posteriormente enfatizar en organismos utilizados en acuicultura, que es lo finalmente reportado.

En esta revisión bibliográfica, nos enfocamos en i) recopilar y analizar información sobre técnicas para generar OGMs en general ii) recopilar y analizar información sobre técnicas para generar OGMs con énfasis en la acuicultura, como peces y otros organismos hidrobiológicos, iii) proyección de las técnicas identificadas para generar OGM, sobre la actividad acuicultora, en Chile y el mundo, enfatizando sobre las técnicas de edición de genomas.

Para la búsqueda de información respecto a técnicas para generar OGMs, se reunió información desde artículos científicos peer-reviewed revistas científicas enfocadas en Ciencias Biológicas (e.g. Nature, Science, Gene Technology, Advancements in Genetic Engineering, Journal of Next Generation Sequencing & Applications, Journal of Genetic Syndromes & Gene Therapy, Journal of Proteomics & Bioinformatics, Nature Genetics, Nature Protocols, Gene, Molecular Genetics and Genomics, Conservation Genetics, National Toxicology Program genetically modified model report, National Toxicology Program technical report series, (entre otros). Esta búsqueda se realizó en base de datos como por ejemplo ISI Web of Knowledge (<https://www.webofknowledge.com/>), Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), ISI WEB of Science, Scielo, EBSCO, Scholar Google SciVer-se-ScientiDirect, entre otras, considerando las siguientes palabras claves o combinación de estas (español o inglés, según corresponda): organisms genetically modified, aquaculture, transgene, CRISPR-Cas9, meganucleasas, ZFN, TALEN, microinjection, genetic engineering, genome editing, entre otras.

Los resultados de la búsqueda se resumen en la Tabla 4, donde se individualiza aspectos analizados y registrados de cada escrito científico revisado. La construcción de esta tabla y de los análisis posteriores se enfocó en peces, algas y moluscos, siendo otros grupos de especies hidrobiológicas como equinodermos y crustáceos no incorporadas en ella, debido al bajísimo número de referencias científicas encontradas para estos grupos.

Los aspectos analizados y registrados en cada referencia científica fueron:

N documento revisado, todos en pdf disponibles en el preinforme final
Técnica, técnica utilizada(s) para la modificación genética
Gen(s), gen o genes objetivos de modificación
Carácter modificado, o efecto deseado en el fenotipo
Autor, autor principal
Año, de la publicación
Revista
País investigación, se consideró el país de la filiación del autor principal
Nombre especie
Nombre común de la especie
Objetivo de la investigación
Tiempo de desarrollo del experimento
Potencial de ser heredado el carácter que se está modificando
Éxito/resultado del experimento informado
Área aplicación
Nivel de desarrollo de la investigación, (experimental, piloto, productiva)
Protocolo de identificación del OGMs informado en el escrito
Link de la cita

La base de datos total se encuentra depositada en el DVD entregado al FIPA, la Tabla 4 es un resumen de la tabla total. Destacando aquellos aspectos analizados cuantitativamente y cualitativamente.

La línea de tiempo de los reportes científicos (Figura 18) de modificaciones genéticas en especies utilizadas en acuicultura muestran que desde la década de los 80` se ha experimentado un sustancial aumento, observándose desde el 2008 un incremento significativo, año coincidente con la aparición masiva en bibliografía formal de las técnicas de edición genómica (Figura 19). Esta relación positiva entre estudios de modificación genética en especies útiles en acuicultura, y la aparición de las técnicas de edición genómica, no se relaciona con la aplicación directa en la acuicultura aun (Figura 20, 26 y 27).

Respecto al número de estudios por grupos de especies utilizadas en acuicultura y modificadas genéticamente, los peces superan de sobremanera, seguidos por algas y moluscos (Figura 14). En cuanto a las técnicas de modificación genética por grupo de especies, en algas destaca la

transgenia por biobalística, en moluscos la transgenia por electroporación, y en peces la edición genómica mediante CRISPR (Figura 16 y 22).

Los países líderes en estudios de modificación genética en especies utilizadas en acuicultura corresponden a U.S.A, China y Japón en peces, U.S.A, China y Corea del Sur en algas, y U.S.A, China, Francia y Chile en moluscos (Figura 21, 24 y 29).

Particularmente en algas, los primeros reportes de modificación genética datan de 1986, con una amplia variedad de registros en la bibliografía internacional. El enfoque es más bien con fines biotecnológicos, que para fines de acuicultura, por ejemplo mejora en la producción de biodiesel y fitasas, entre otros. A pesar de este importante volumen de información, se observa un nivel de desarrollo muy inferior al observado en peces, plantas y animales terrestres. Las especies de algas frecuentemente sometidas a modificación genética son microalgas, por ejemplo, del género *Chlamydomonas*, quedando muy por debajo la modificación genética en macrolagas, reportándose estudios solo en *Ulva lactuca* y *Gracilaria changii*. En cuanto a las técnicas de modificación genética con mayor uso en algas, predominan las técnicas de transgénesis mediante biobalística, electroporación, y transformación bacteriana, quedando en cuarto lugar la modificación genética mediante la edición genómica mediante CRISPR. La gran mayoría de las referencias corresponden a informes de modificación genética con fines experimentales y de biotecnología, en una fase de desarrollo experimental, no verificándose en la revisión un desarrollo a nivel productivo. Los países que muestran los mayores esfuerzos en el uso de técnicas de modificación genética en algas son USA, China y Corea del Sur. Otros países como India, Suiza, Japón y Alemania muestran una participación menor. Si bien prácticamente la totalidad de los trabajos se encuentran en una etapa de desarrollo experimental, la información generada por ellos tiene potencial de aplicación en acuicultura.

En el caso de moluscos, los primeros reportes de modificación genética datan de 1996, pero los registros en la bibliografía internacional son escasos (20 referencias), reflejando un nivel de desarrollo muy inferior al observado en peces, algas, plantas y animales terrestres. Los grupos de especies más utilizados son los abalones (5 de 20 referencias), los mejillones (5 de 20 referencias) y las ostras (4 de 20 referencias), todos grupos de alto interés comercial para la acuicultura. La gran mayoría corresponden a informes de modificación genética por transgénesis (17 de 20

referencias) con fines experimentales, aunque se registra una patente sobre un método para producir transgénicos en moluscos (Burns & Chen 1999). La técnica más usada para transferir un transgen es mediante el uso de espermatozoides como vectores del constructo de ADN, pero se han ensayado también la exposición de espermatozoides al ADN desnudo, inyecciones a la gónada, microinyección de huevos y electroporación de embriones, todas con distintos niveles de éxito. Las técnicas de edición genómica en moluscos tienen un desarrollo reciente, reportándose la primera edición en el 2015, utilizándose tanto para silenciar genes (knock-out) o para editar, inhibir o activar. De las técnicas de edición genómica disponibles, la más empleada ha sido CRISPR/Cas9, con aplicaciones experimentales.

Los países que muestran los mayores esfuerzos en el uso de técnicas de modificación genética son USA y China (5 de 20 referencias cada uno). Otros países como Francia, Taiwan, Japón, muestran una participación menor. En Chile sólo una investigadora ha publicado un artículo y una presentación en congreso, ambos trabajos en colaboración con un investigador español, sobre transferencia de genes a moluscos. Los objetivos de estos estudios, por otra parte, están orientados a probar técnicas para modificación genética y establecer las condiciones adecuadas de estas para su uso. En moluscos, sólo un número limitado de trabajos han estado orientado a la comprensión de las funciones de genes determinados, por ejemplo, en el desarrollo, o procesos fisiológicos u ontogenéticos. Destacan un trabajo sobre el rol de un gen que controla el efecto maternal sobre el giro de la concha en caracol de agua dulce (Abe & Kuroda, 2019), y otro para probar un disruptor de la fertilidad para controlar escapes de poblaciones domesticadas al medio natural (Tresher et al., 2009).

Si bien prácticamente la totalidad de los trabajos se encuentran en una etapa de desarrollo experimental, la información generada por ellos tiene potencial de aplicación en acuicultura.

El desarrollo de la modificación genética en moluscos aún está en una fase incipiente, sin aplicaciones prácticas reales en acuicultura u otro ámbito. Sin embargo, las disponibilidades de tecnologías de modificación genética desarrolladas en otros grupos de organismos son plenamente aplicables en moluscos. La factibilidad de utilizar espermatozoides como vector para modificar o silenciar genes, o introducir genes exógenos, la alta fecundidad, y el desarrollo de las tecnologías de cultivo hacen de distintos grupos de moluscos un grupo con alto potencial para aplicar estas técnicas.

En el caso de los peces, del levantamiento bibliográfico se rescata que dentro de las técnicas de modificación genética, la que mostró un mayor porcentaje de uso es la edición genómica del tipo CRISPR/Cas9 con un 39,4%. Las siguientes técnicas de modificación genética ordenadas de forma descendente según porcentaje de uso son: transgenia por microinyección (23,4%), TILLING (15,3%), ZFN (13,9%), TALEN (5,8%), transgenia por electroporación (1,5%), y transgenia por vector retroviral (<1%) (Figura 30). En la revisión bibliográfica se identificó un total de 14 países que han aplicado diferentes técnicas de modificación genética en peces, encontrándose principalmente en el hemisferio norte (i.e. Asia, Europa y América del Norte). El país que mostró un mayor de investigaciones a la modificación genética en peces es China con un 25,5%, seguido de Estados Unidos con 22,6% y posteriormente Japón con un 16,1%. Estos tres países desarrollan más del 50% de la investigación en OGMs respecto a peces. Otros países son: Alemania, Finlandia, India y Singapur con un 4,4% cada uno, Noruega, Francia, y Australia con un 3,6% respectivamente, Inglaterra con 2,9%, Holanda con 2,2%, Corea del sur con un 1,5%, Canadá y Chile con un 0,7% (Figura 31). De las 16 especies diferentes de peces identificadas en la revisión bibliográfica, la especie mayormente estudiada y en donde se han aplicado diferentes técnicas de modificación genética es *Danio rerio* (pez cebra) con un 48,2%, seguido de *Oryzias latipes* (Medaka) con un 18,2%. Los salmonidos *Oncorhynchus mykiss* (3,6%) y *Salmo salar* (4,4%) suman 8%, (Figura 32).

La principal área de aplicación de los OGMs en peces es la investigación con un 92,7%. En un menor porcentaje trabajos relacionados directamente con fines acuícolas (5,8%) (Figura 33). En cuanto al nivel de desarrollo de las técnicas utilizadas desde una perspectiva experimental o productivo, el levantamiento de información entrega que un 97,8% corresponde a un desarrollo experimental, y solo un 2,2% productivo (Figura 34).

Las técnicas de modificación genética en peces están altamente desarrollada e informadas, en comparación con otras especies hidrobiológicas útiles en acuicultura, como algas y moluscos, estando muy encima de crustáceos y equinodermos. El estado del desarrollo de estas técnicas en peces presenta aplicaciones prácticas reales en acuicultura u otro ámbito.

CONCLUSIONES

La acuicultura es el sector de producción de alimentos de más rápido crecimiento en el mundo, aun mayor que la pesca, y es visto como un componente esencial de la seguridad alimentaria y nutricional, particularmente en el mundo en desarrollo. El uso de la genética y las tecnologías de mejoramiento en la acuicultura está aumentando rápidamente, junto con el desarrollo de programas de mejoramiento de alta tecnología para muchas de las especies hidrobiológicas más importante del mundo. La mayoría de las especies acuáticas cultivadas están cerca sus ancestros silvestres, y esto ofrece un importante recurso sin explotar para mejorar la producción sostenible de especies en la acuicultura. Además, la fertilización externa y la alta fecundidad de las especies acuícolas ofrecen oportunidades interesantes para estudios genéticos de alta resolución para comprender y mejorar complejos rasgos. Las tecnologías de edición del genoma, como CRISPR/Cas9, tienen un potencial significativo para acelerar la ganancia genética para rasgos productivos. Por ejemplo, las enfermedades infecciosas son una de las principales limitaciones para la producción acuícola y, por lo tanto, un objetivo para la cría selectiva y la edición genómica. La resistencia a ciertos patógenos es un rasgo adecuado para el uso de tecnologías de edición genómica, debido a la dificultad en la medición no destructiva del rasgo en la cría.

Las diferentes categorías de aplicaciones de las técnicas de edición genómica incluyen: (i) fijación de alelos favorables que afecten algún rasgo de interés (rasgos simples o del tipo QTL; Quantitative Trait Loci); (ii) introgresión por edición de alelos favorables en sistemas de reproducción cerrados de otras poblaciones, cepas o especies; y (iii) creación y uso de alelos de novo con efectos positivos en el rasgo productivo de interés. La edición del genoma junto con enfoques genéticos y genómicos establecidos permite la detección y preselección de variantes funcionales candidatas para la validación *in vivo*, y de potencial aplicación comercial, introduciendo en el germoplasma de un bien administrado, germoplasma de especies acuícolas, variantes alélicas potencialmente favorables para el rendimiento productivo.

Los programas de mejoramiento en acuicultura se difundirán a una escala y ritmo no factibles en los centros acuícolas. Por lo tanto, sujeto a regulaciones sanitarias y medioambientales eficaces, la edición genómica tiene el potencial de transformar significativamente la producción sustentable de la acuicultura.

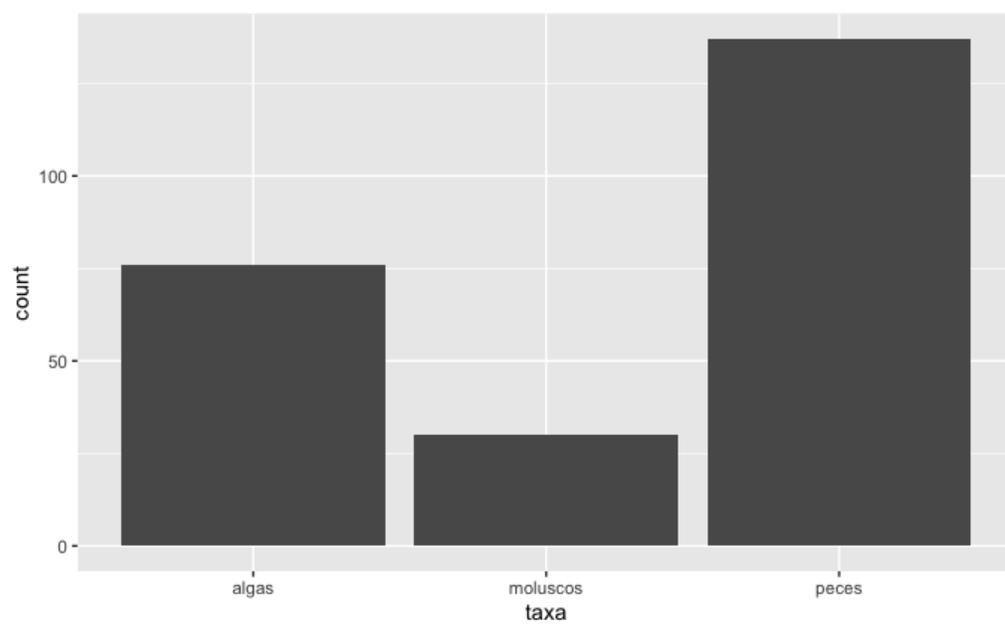


Figura 14. Número de referencias científicas para OGMH.

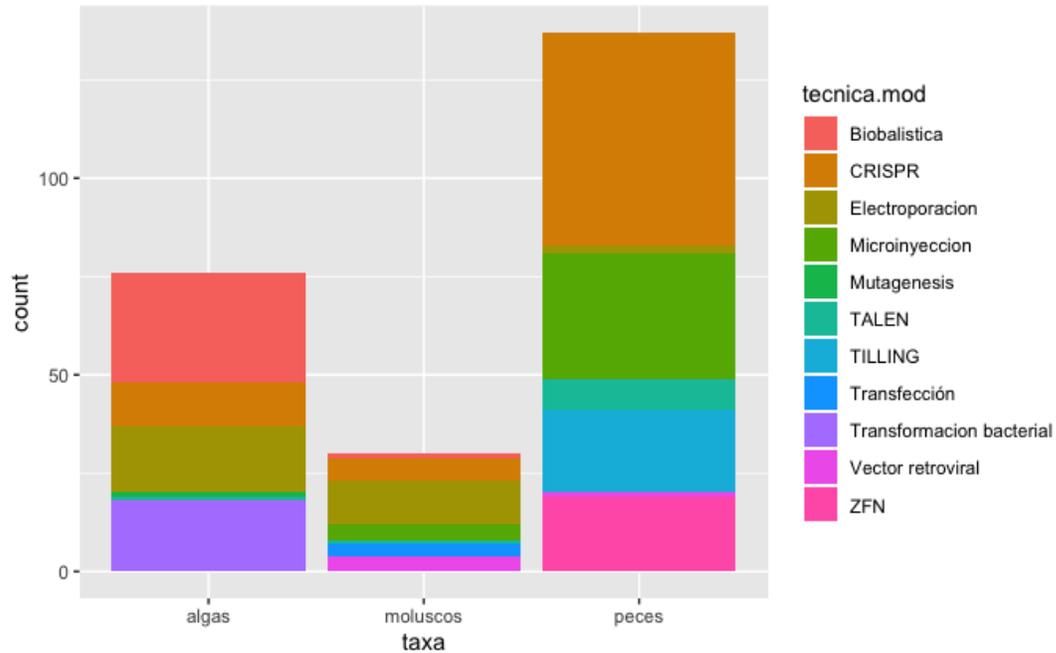


Figura 15. Número de referencias científicas para OGMH, y por técnica de modificación genética. En esta gráfica para CRISPR, TALEN, ZFN y TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes, mutagenesis química dirigida), no se ha individualizado la técnica de liberación de ADN. Las técnicas de liberación de ADN aquí individualizadas han sido utilizadas para modificación genética por transgenia.

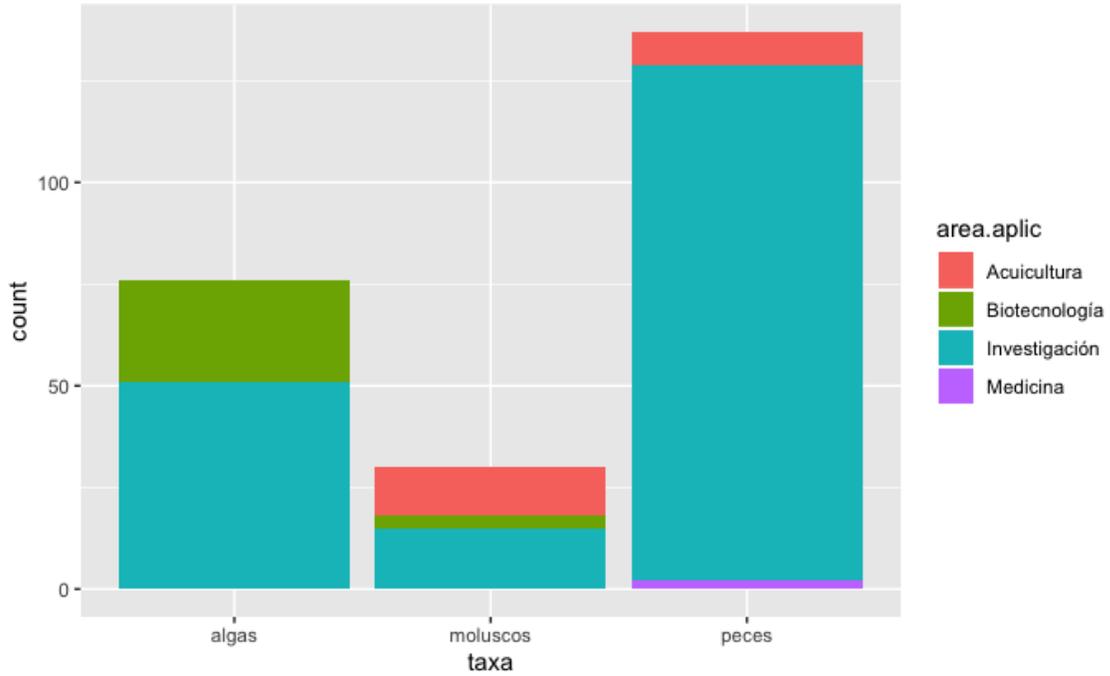


Figura 16. Número de referencias científicas revisadas para OGMH, y por área de aplicación.

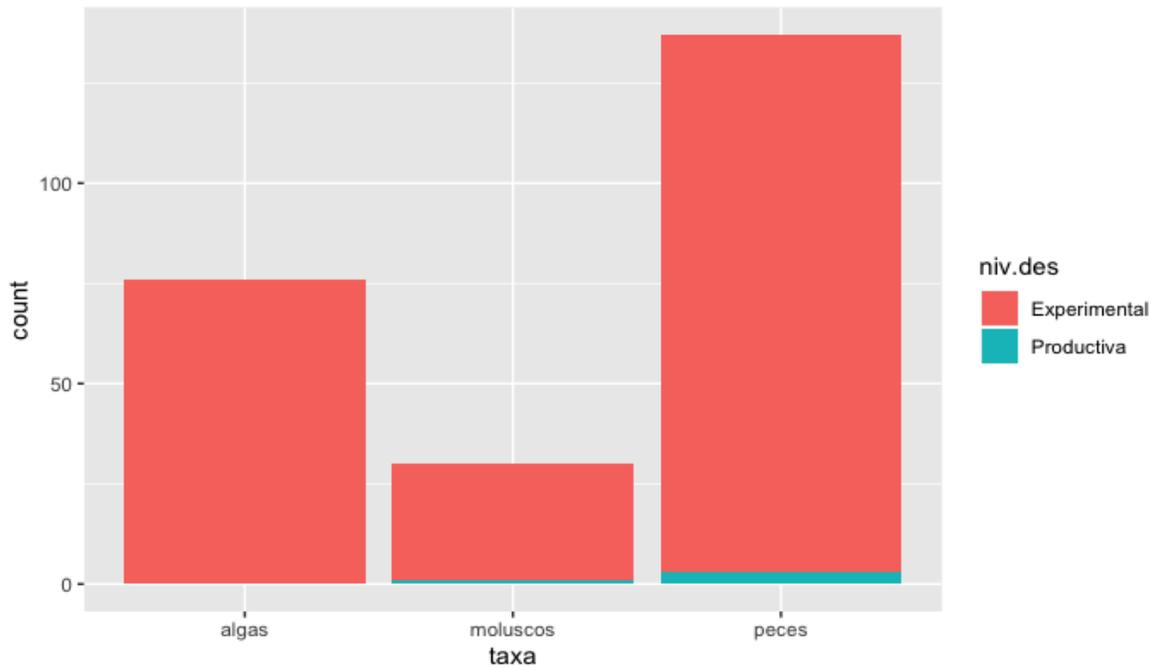


Figura 17. Número de referencias científicas para OGMH y por nivel de desarrollo.

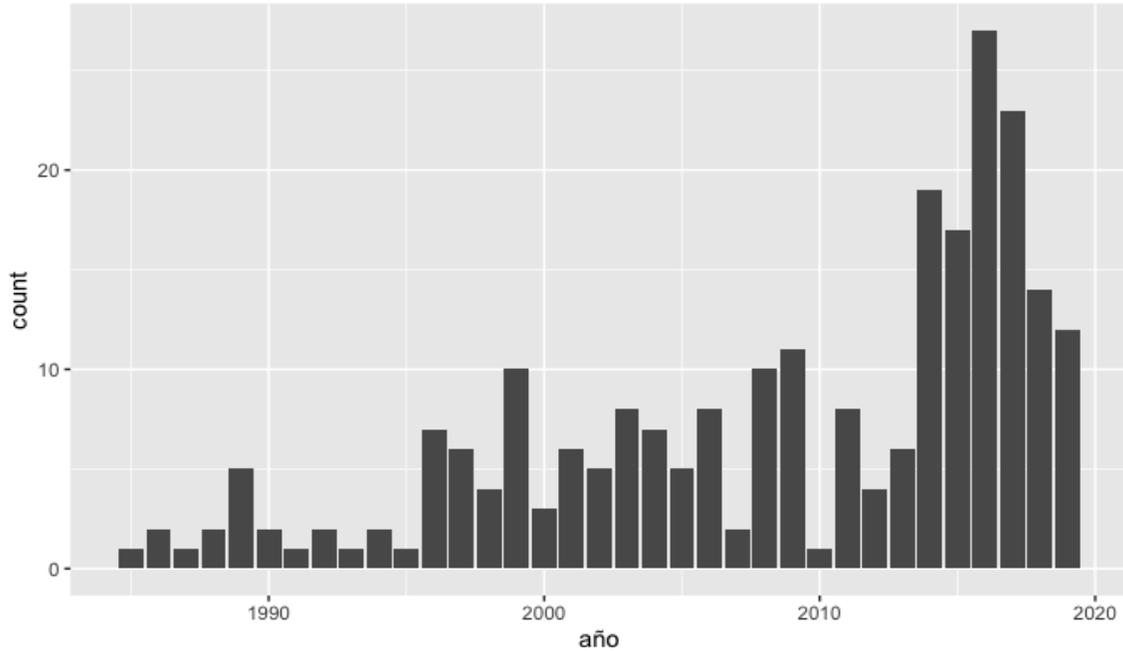


Figura 18. Número de referencias científicas revisadas por nivel de desarrollo en OGMH en acuicultura.

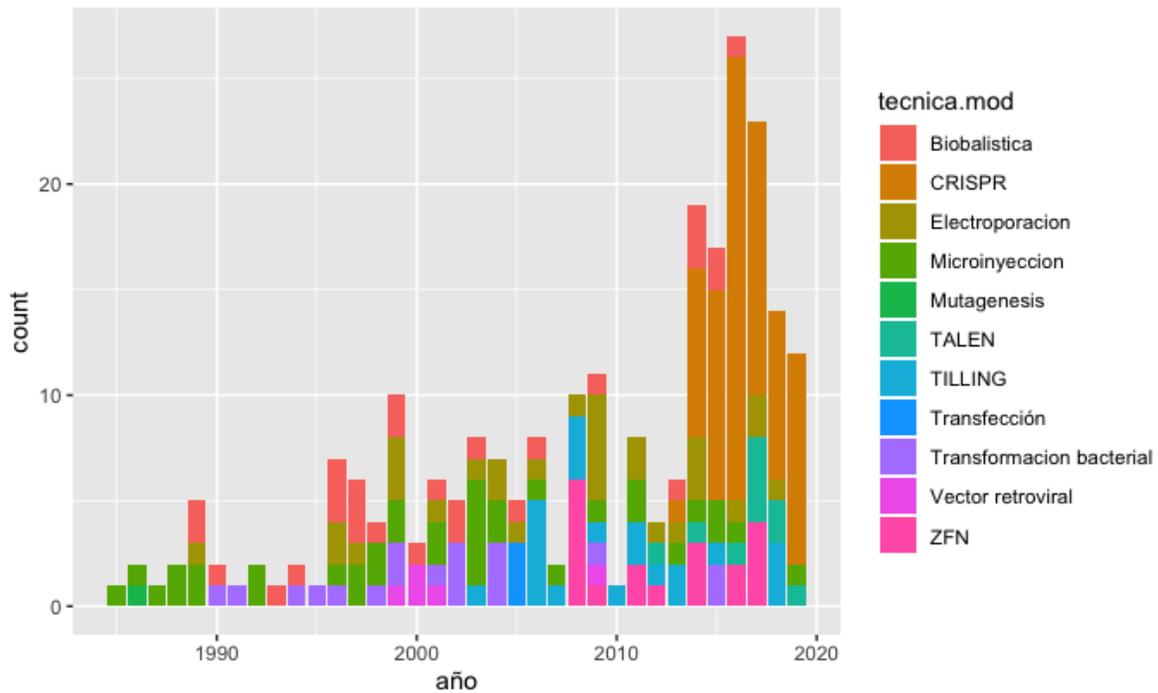


Figura 19. Número de referencias científicas por año y por técnica para generar OGMH. En esta gráfica para CRISPR, TALEN, ZFN y TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes, mutagenesis química dirigida), no se ha individualizado la técnica de liberación de ADN. Las técnicas de liberación de ADN aquí individualizadas han sido utilizadas para modificación genética por transgenia.

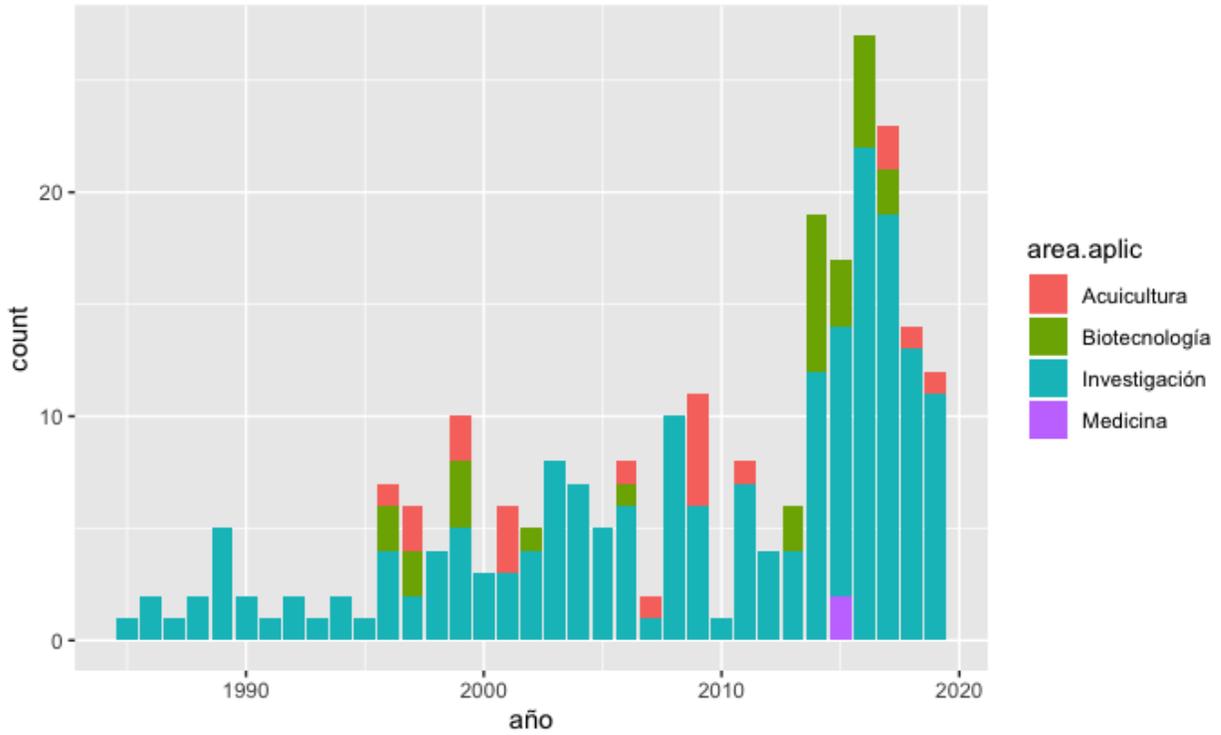


Figura 20. Número de referencias científicas relacionadas con OGMH en acuicultura, por año y por área de aplicación.

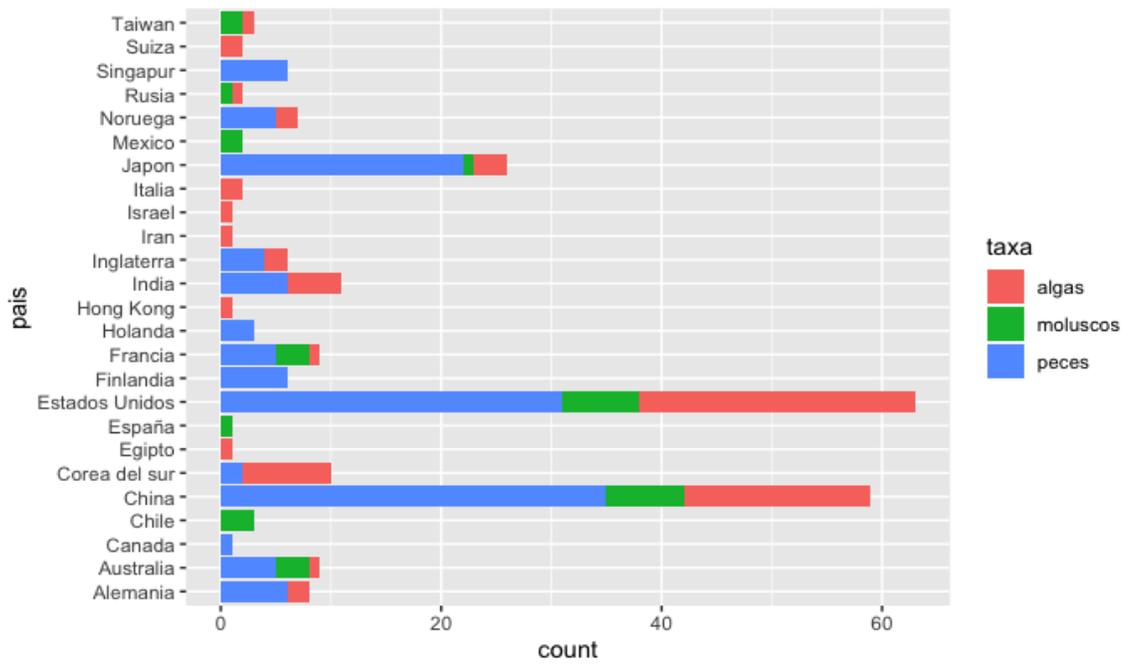


Figura 21. Número de referencias científicas por país para cada grupo de OGMH.

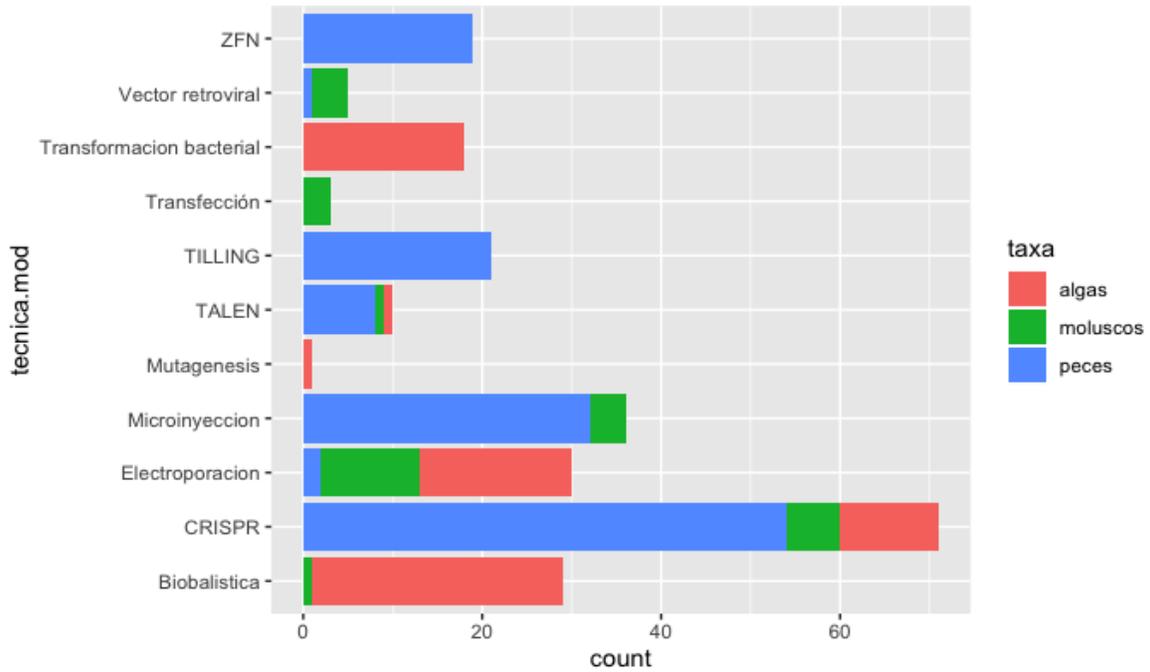


Figura 22. Número de referencias científicas por técnica de generación de OGMHs, para cada grupo de especies en acuicultura. En esta gráfica para CRISPR, TALEN, ZFN y TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes, mutagenesis química dirigida), no se ha individualizado la técnica de liberación de ADN. Las técnicas de liberación de ADN aquí individualizadas han sido utilizadas para modificación genética por transgenia.

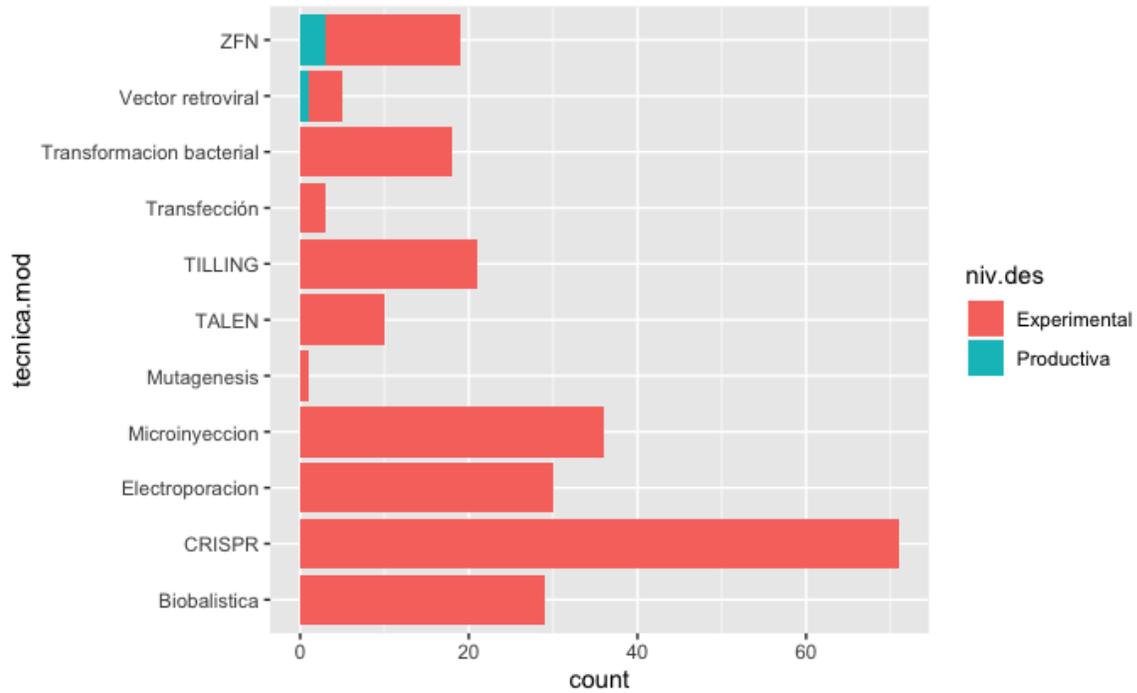


Figura 23. Número de referencias científicas revisadas por técnica de generación de OGMH, por nivel de desarrollo. En esta gráfica para CRISPR, TALEN, ZFN y TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes, mutagenesis química dirigida), no se ha individualizado la técnica de liberación de ADN. Las técnicas de liberación de ADN aquí individualizadas han sido utilizadas para modificación genética por transgenia.

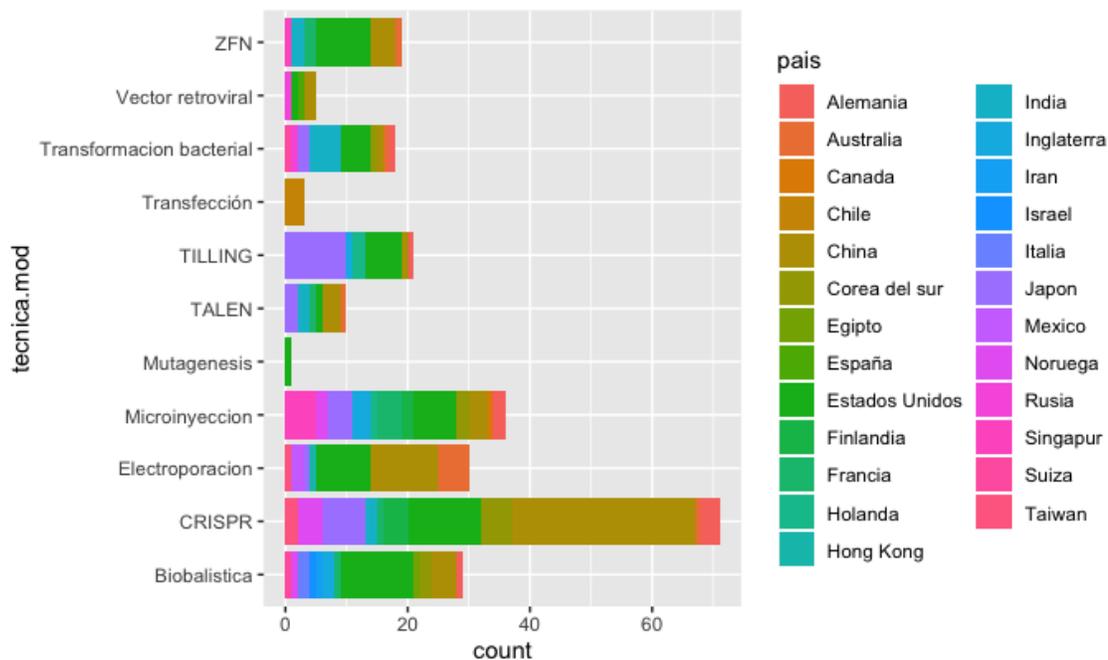


Figura 24. Número de referencias científicas por técnica de generación de OGMH, por país. En esta gráfica para CRISPR, TALEN, ZFN y TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes, mutagenesis química dirigida), no se ha individualizado la técnica de liberación de ADN. Las técnicas de liberación de ADN aquí individualizadas han sido utilizadas para modificación genética por transgenia.

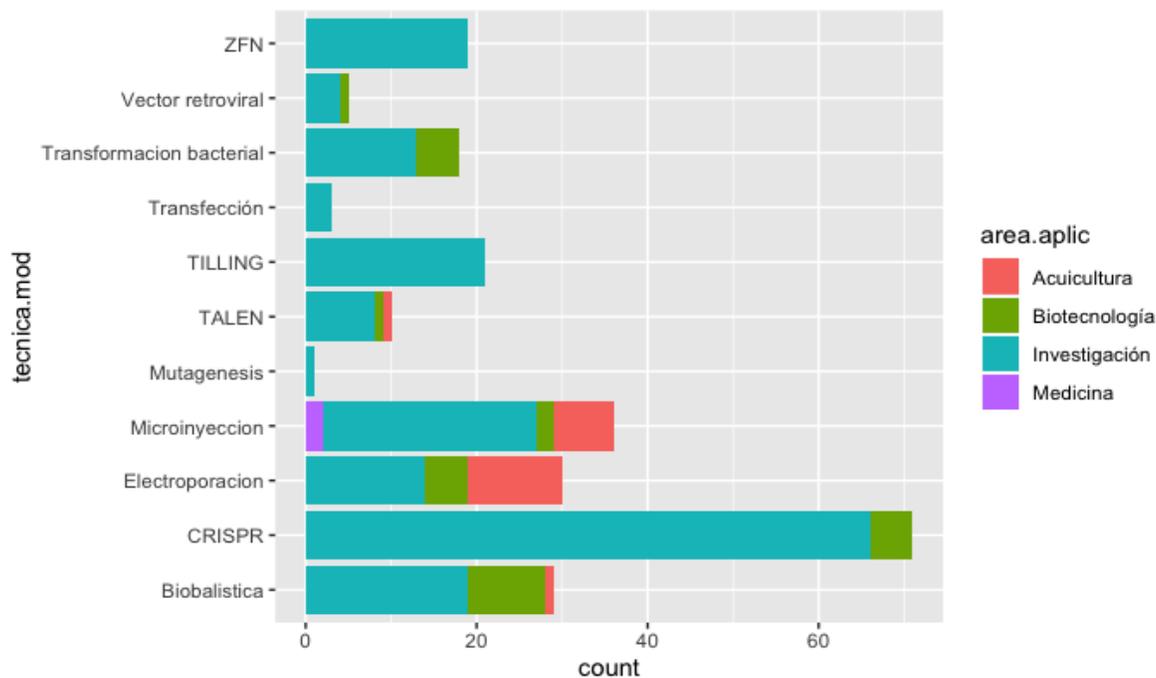


Figura 25. Número de referencias científicas por técnica de generación de OGMH, por área de aplicación. En esta gráfica para CRISPR, TALEN, ZFN y TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes, mutagenesis química dirigida), no se ha individualizado la técnica de liberación de ADN. Las técnicas de liberación de ADN aquí individualizadas han sido utilizadas para modificación genética por transgenia.

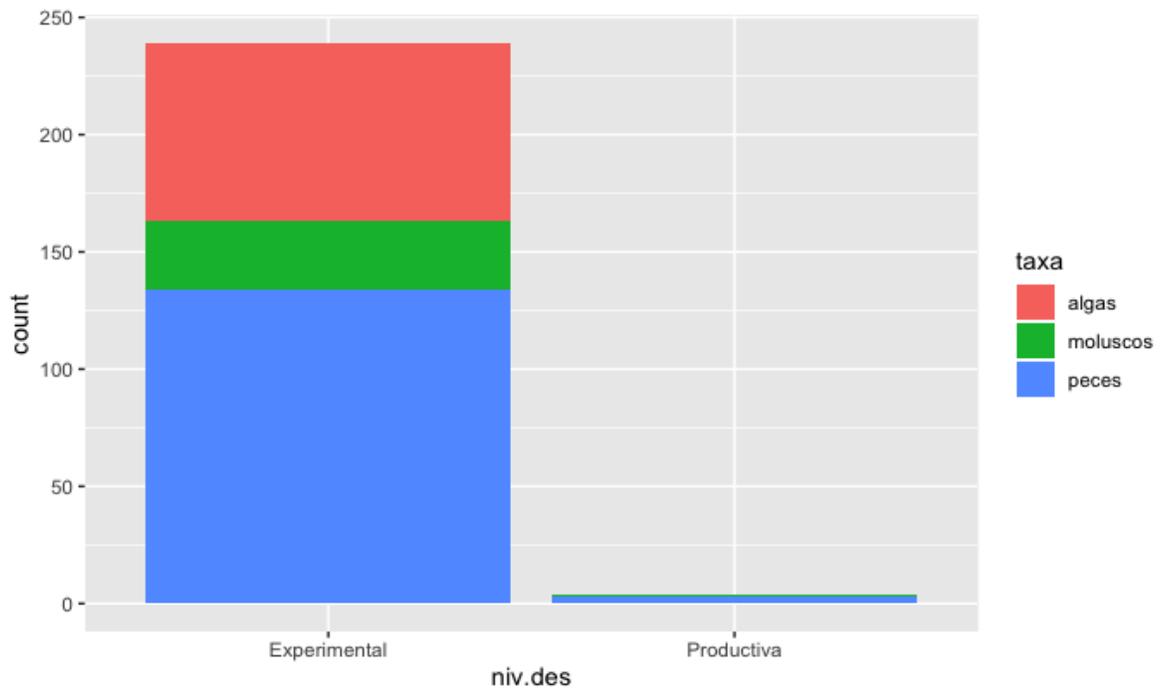


Figura 26. Número de referencias científicas por nivel de desarrollo y por grupo de especies OGMH en acuicultura.

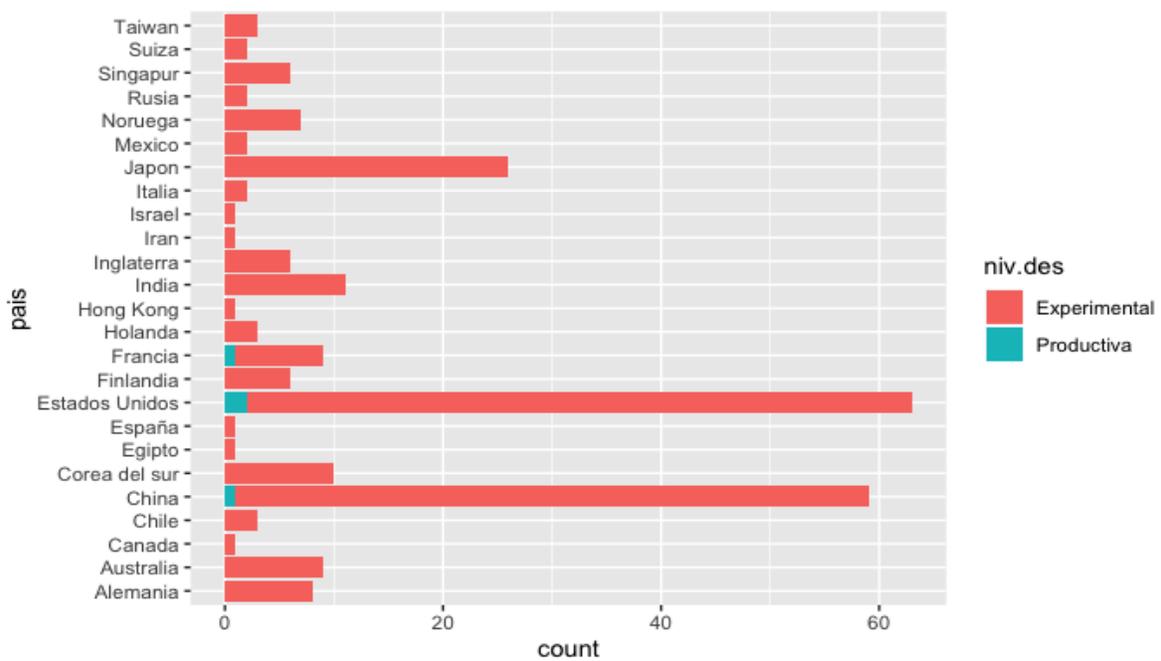


Figura 27. Número de referencias científicas por nivel de desarrollo y por país, en especies OGMH en acuicultura.

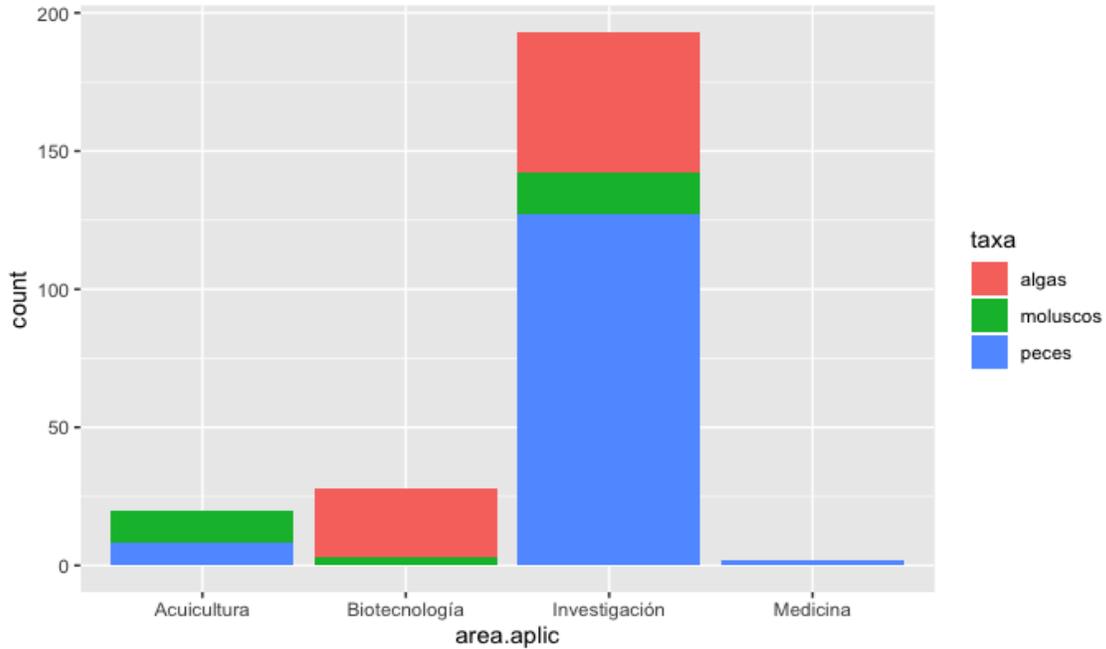


Figura 28. Número de referencias científicas por área de aplicación y por grupo de especies OGMH en acuicultura.

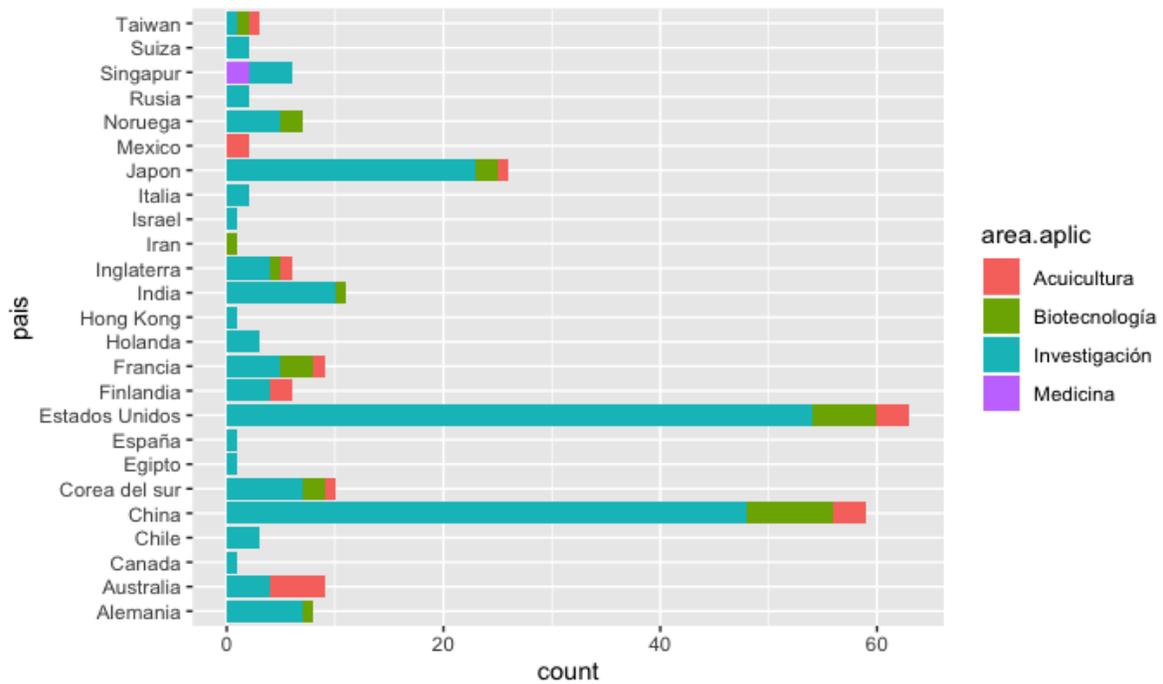


Figura 29. Número de referencias científicas por área de aplicación y por país para los grupos de especies OGMH en acuicultura.

Count of tecnica.mod

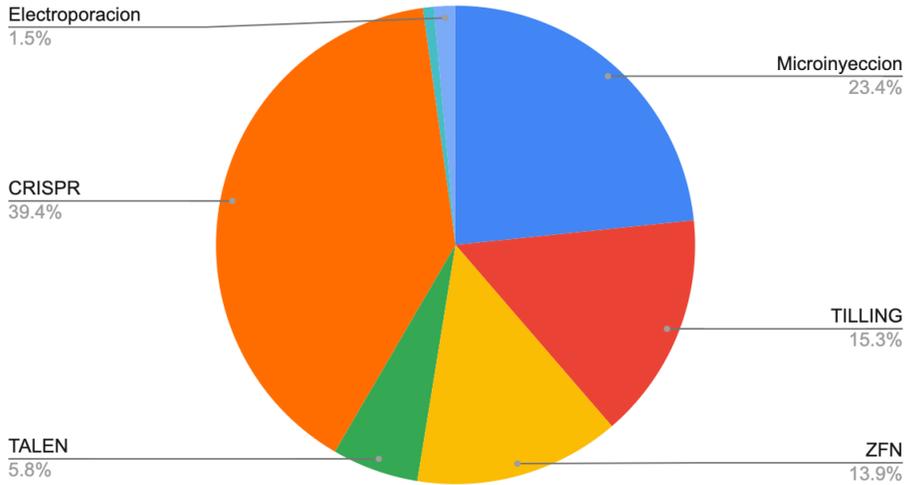


Figura 30. Frecuencia de aplicacion de técnicas de modificación genética en peces. En este gráfico, electroporacion y microinyección corresponden a técnicas de liberación de ADN que han sido utilizadas para modificación por transgenia. Para las técnicas de edición genómica CRISPR, TALEN y ZFN no se ha individualizado por técnica de liberación de ADN. TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes, mutagenesis química dirigida).

Count of pais

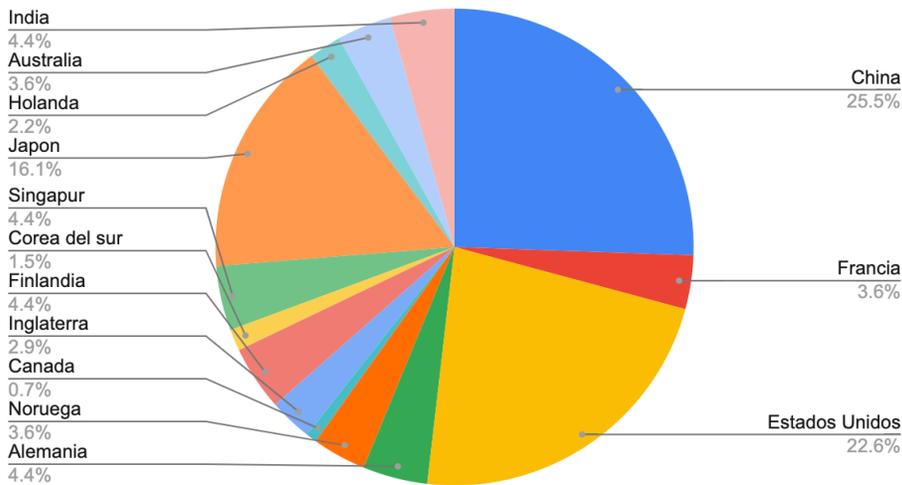


Figura 31. Frecuencia de países que realizan estudios de modificación genética aplicada en peces.

Count of n.sp

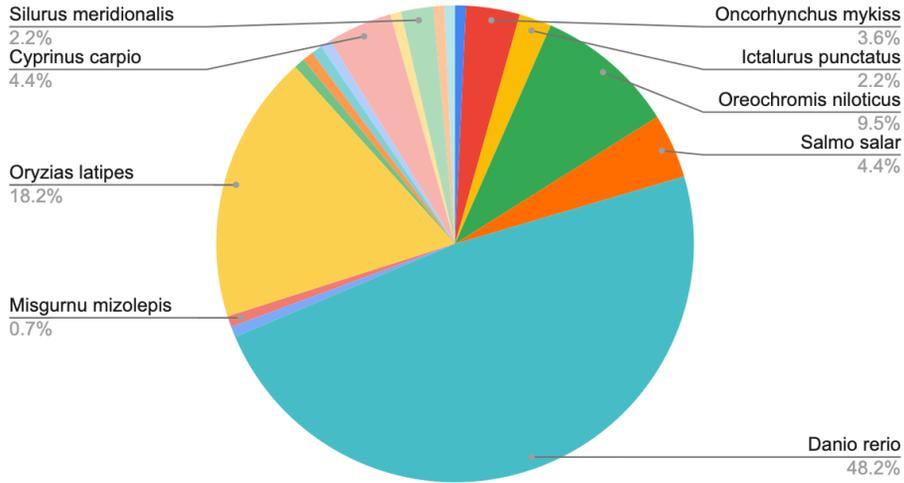


Figura 32. Frecuencia de las principales especies de peces sometidas a modificación genética en el mundo.

Count of area.aplic

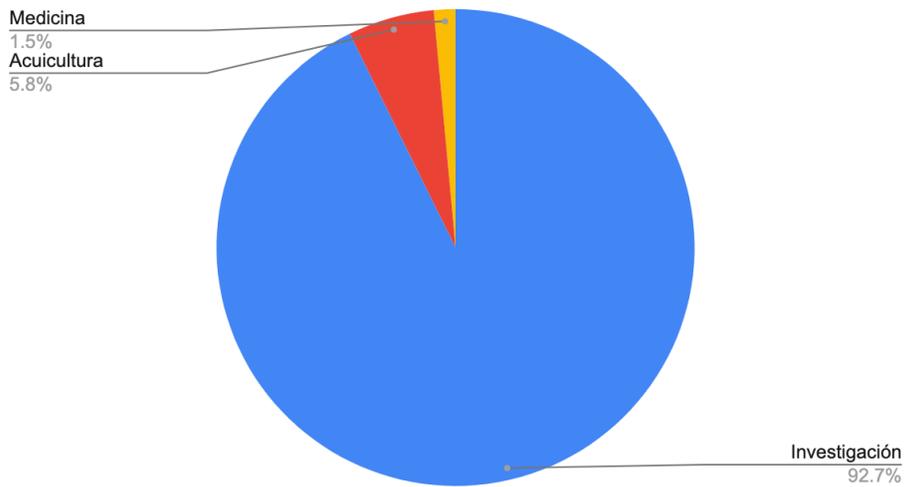


Figura 33. Frecuencia de áreas de aplicación donde se utilizan técnicas de modificación genética en peces.

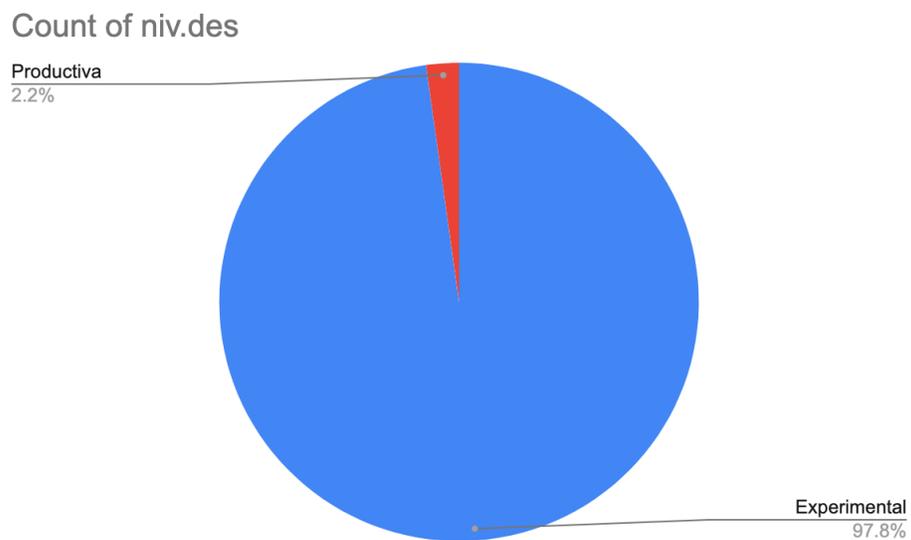


Figura 34. Frecuencia del nivel de desarrollo de estudios asociados a técnicas de modificación genética en peces.

Tabla 4. Tabla resumen de estudios publicados sobre organismos genéticamente modificados utilizados en acuicultura.

Taxa	Tecnica.mod	Gen.mod	Carácter	Autor	Año	Revista	País	Especie	area.aplic	niv.des
peces	Transgenia	GH	NA	Zhu	1985	J Appl Ichthyol	China	Carassius auratus	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	GH	Hormona de crecimiento	Chourrout	1986	Aquaculture	Francia	Oncorhynchus mykiss	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	GH	Cromosoma	Dunham	1987	Trans Am Fish Soc	Estados Unidos	Ictalurus punctatus	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	GH	Tasa de crecimiento	Brem	1988	Aquaculture	Alemania	Oreochromis niloticus	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	AFP	Resistencia al frío	Fletcher	1988	Can J Fish Aquat Sci	Estados Unidos	Salmo salar	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	GH	Cromosoma	Rokkoneset	1989	J Comp Physiol B	Noruega	Oncorhynchus mykiss	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	GH	Cromosoma	Rokkoneset	1989	J Comp Physiol B	Noruega	Salmo salar	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	GH	Tasa de crecimiento	Jun Du	1992	Nat Biotechnol	Canada	Salmo salar	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	GH	Cromosoma	Rahman & McLean	1992	Aquaculture	Inglaterra	Oreochromis niloticus	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	b-actina	NA	Alam	1996	Transgenic Res	Inglaterra	Oreochromis niloticus	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	Tcr3	Introduccion de una proteina transposasa	Raz	1998	Curr Biol	Alemania	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	Tcr1	Embriones	Fadool	1998	PNAS	Estados Unidos	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	hGluT1	Metabolismo de carbohidratos	Pitkänen	1999	Aquaculture	Finlandia	Oncorhynchus mykiss	Acuicultura	Experimental
peces	Transgenia	rHKII	Metabolismo de carbohidratos	Pitkänen	1999	Aquaculture	Finlandia	Salvelinus alpinus	Acuicultura	Experimental
peces	Transgenia	GH	Eficiencia conversion nutricional y crecimiento	Rahman	2001	J Fish Biol	Inglaterra	Danio rerio	Acuicultura	Experimental
peces	Transgenia	GH	Crecimiento corporal	Nam	2001	Transgenic Res	Corea del sur	Misgurnu mizolepis	Acuicultura	Experimental
peces	Transgenia	GFP	Color tejidos	Davidson	2003	Dev Biol	Estados Unidos	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	GFP	Musculo	Gong	2003	Biochem Biophys Res Commun	Singapur	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	RFP	Musculo	Gong	2003	Biochem Biophys Res Commun	Singapur	Danio rerio	Investigación	Experimental

peces	Transgenia	YFP	Musculo	Gong	2003	Biochem Biophys Res Commun	Singapur	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	GFP	Músculo esquelético	Kinoshita	2004	Fisheries Sci	Japon	Oryzias latipes	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	RFP	Músculo esquelético	Kinoshita	2004	Fisheries Sci	Japon	Oryzias latipes	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	GH	Eficiencia crecimiento	Kobayashi	2007	Aquaculture	Japon	Oreochromis niloticus	Acuicultura	Experimental
peces	Transgenia	Bac	NA	Suster	2009	BMC Genomics	Japon	Danio rerio	NA	Experimental
peces	Transgenia	GFP	NA	Fujimura	2011	Aquaculture	Estados Unidos	Oreochromis niloticus	Acuicultura	Experimental
peces	Transgenia	Bac	Tejido embriones	Bussmann & Schulte-Merker	2011	Development	Holanda	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	chgH	Sensibilidad al estrogenos transmitidos por el agua	Cho	2013	Transgenic Res	Corea del sur	Oryzias latipes	Investigación	Experimental
peces	Transgenia	myca	Higado	Sun	2015	PLoS ONE	Singapur	Danio rerio	Medicina	Experimental
peces	Transgenia	mycb	Higado	Sun	2015	PLoS ONE	Singapur	Danio rerio	Medicina	Experimental
peces	Transgenia	Tg	Epitelio	Chen	2016	Dev Cell	Estados Unidos	Danio rerio	NA	Experimental
peces	ZFNs	sdY	Determinación genética del sexo	Yano	2014	Mar Biotechnol	Francia	Oncorhynchus mykiss	NA	Experimental
peces	Transgenia	GFP	Neuronas	Stahl	2019	Dev Dyn	Estados Unidos	Astyanax mexicanus	Investigación	Experimental
peces	TILLING	NA	NA	Wienholds	2003	Genome Res	Holanda	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	TILLING	Blm	NA	Taniguchi	2006	Genome Biol	Japon	Oryzias latipes	Investigación	Experimental
peces	TILLING	Sirt1	NA	Taniguchi	2006	Genome Biol	Japon	Oryzias latipes	Investigación	Experimental
peces	TILLING	Parkin	NA	Taniguchi	2006	Genome Biol	Japon	Oryzias latipes	Investigación	Experimental
peces	TILLING	p53	NA	Taniguchi	2006	Genome Biol	Japon	Oryzias latipes	Investigación	Experimental
peces	TILLING	NA	NA	Dahm	2006	Mar Biotechnol	Alemania	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	TILLING	nanos1	oocyte production	Draper	2007	Dev Biol	Estados Unidos	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	TILLING	WASp	WASp1 wound-triggered inflammatory response	Cvejic	2008	J Cell Sci	Inglaterra	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	TILLING	NA	NA	Moens	2008	Brief Funct Genomic Proteomic	Estados Unidos	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	TILLING	NA	NA	Skromne	2008	Dev Dyn	Estados Unidos	Danio rerio	Investigación	Experimental

peces	TILLING	NA	NA	De Bruijn	2009	Methods Mol Biol	Holanda	Danio rerio	Investigación	Experimental
peces	TILLING	<i>pink1</i>	NA	Matsui	2010	Neurosci Res	Japon	Oryzias latipes	investigación	Experimental
peces	TILLING	NA	NA	Liu_Leach	2011	Annu Rev Pathol-Mech	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	ZFN	NA	NA	Liu_Leach	2011	Annu Rev Pathol-Mech	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	TILLING	mstn	MSTN-deficient	Chisada	2011	Dev Biol	Japon	Oryzias latipes	investigación	Experimental
peces	TILLING	NA	NA	Huang	2012	J Genet Genom	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	ZFN	NA	NA	Huang	2012	J Genet Genom	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	TALEN	NA	NA	Huang	2012	J Genet Genom	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	TILLING	mstn	MSTN-deficient	Kuroyanagi	2013	BMC Genomics	Japon	Takifugu rubripes	investigación	Experimental
peces	TILLING	pu1	reduction of Pu.1 activity	Sun	2013	Leukemia	China	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	TILLING	NA	NA	Pan	2015	BMC Genomics	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	TILLING	zmpste24	lack of zmpste24	Tonoyama	2018	Comp Biochem Physiol C: Comp Pharmacol Toxicol	Japon	Oryzias latipes	investigación	Experimental
peces	TILLING	sox5-sox10	loss of sox5/sox10 (pigments)	Nagao	2018	PLoS Genet	Japon	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	TALEN	sox5-sox10	loss of sox5/sox10 (pigments)	Nagao	2018	PLoS Genet	Japon	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	CRISPR	sox5-sox10	loss of sox5/sox10 (pigments)	Nagao	2018	PLoS Genet	Japon	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	TILLING	sox5-sox10	loss of sox5/sox10 (pigments)	Nagao	2018	PLoS Genet	Japon	Oryzias latipes	investigación	Experimental
peces	ZFN	tfr2	insertions and deletions	Foley	2008	PLoS ONE	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	ZFN	dopamine	insertions and deletions	Foley	2008	PLoS ONE	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	ZFN	transporter	insertions and deletions	Foley	2008	PLoS ONE	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	ZFN	telomerase	insertions and deletions	Foley	2008	PLoS ONE	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	ZFN	hif1aa	insertions and deletions	Foley	2008	PLoS ONE	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental

peces	ZFN	gridlock	insertions and deletions	Foley	2008	PLoS ONE	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	ZFN	NA	NA	Rémy	2009	Transgenic Res	Francia	NA	investigación	Experimental
peces	ZFN	mstn	disruption of mstn	Dong	2011	PLoS ONE	China	Pelteobagrus fulvidraco	investigación	Productiva
peces	ZFN	sdY	disruption of sexually dimorphic on the Y chromosome	Yano	2014	Mar Biotechnol	Francia	Oncorhynchus mykiss	investigación	Productiva
peces	ZFN	gsdf	gene disruption	Zhang	2014	Mar Biotechnol	Singapur	Oryzias latipes	investigación	experimental
peces	ZFN	gsdf	red fluorescent protein (rfp)	Guan	2014	Mar Biotechnol	China	Oryzias latipes	investigación	Experimental
peces	ZFN	NA	NA	Sertori	2016	Brief Funct Genomics	Australia	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	TALEN	NA	NA	Sertori	2016	Brief Funct Genomics	Australia	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	CRISPR	NA	NA	Sertori	2016	Brief Funct Genomics	Australia	Danio rerio	investigación	Experimental
peces	ZFN	LH	sterilization by gene inactivation	Qin	2016	Mar Biotechnol	Estados Unidos	Ictalurus punctatus	investigación	Productiva
peces	TALEN	sox5-sox10	loss of sox5/sox10 (pigments)	Nagao	2018	PLoS Genet	Japon	Oryzias latipes	investigación	Experimental
peces	CRISPR	sox5-sox10	loss of sox5/sox10 (pigments)	Nagao	2018	PLoS Genet	Japon	Oryzias latipes	investigación	Experimental
peces	ZFN	NA	NA	Zhu	2017	Gen Comp Endocrinol	China	Danio rerio	investigación	experimental
peces	ZFN	NA	NA	Zhu	2017	Gen Comp Endocrinol	China	Oryzias latipes	investigación	experimental
peces	CRISPR	NA	NA	Zhu	2017	Gen Comp Endocrinol	China	Danio rerio	investigación	experimental
peces	CRISPR	NA	NA	Zhu	2017	Gen Comp Endocrinol	China	Oryzias latipes	investigación	experimental
peces	TALEN	NA	NA	Zhu	2017	Gen Comp Endocrinol	China	Danio rerio	investigación	experimental
peces	TALEN	NA	NA	Zhu	2017	Gen Comp Endocrinol	China	Oryzias latipes	investigación	experimental
peces	ZFN	NA	NA	Barman	2017	Transgenic Res	India	Danio rerio	investigación	experimental
peces	CRISPR	NA	NA	Barman	2017	Transgenic Res	India	Danio rerio	investigación	experimental
peces	TALEN	NA	NA	Barman	2017	Transgenic Res	India	Danio rerio	investigación	experimental
peces	ZFN	NA	NA	Barman	2017	Transgenic Res	India	Oryzias latipes	investigación	experimental

peces	CRISPR	NA	NA	Barman	2017	Transgenic Res	India	Oryzias latipes	investigación	experimental
peces	TALEN	NA	NA	Barman	2017	Transgenic Res	India	Oryzias latipes	investigación	experimental
peces	CRISPR	Tg	Disrupcion alelica	Jao	2013	PNAS	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	experimental
peces	CRISPR	neurod	Integración de ADN en loci endógenos	Auer	2014	Genome Res	Francia	Danio rerio	investigación	experimental
peces	CRISPR	nanos2	características sexuales	Li	2014	Genetics	China	Oreochromis niloticus	investigación	experimental
peces	CRISPR	nanos3	características sexuales	Li	2014	Genetics	China	Oreochromis niloticus	investigación	experimental
peces	CRISPR	nanos2	características sexuales	Li	2014	Genetics	China	Oreochromis niloticus	investigación	experimental
peces	CRISPR	nanos3	características sexuales	Li	2014	Genetics	China	Oreochromis niloticus	investigación	experimental
peces	CRISPR	dmrt1	pigmentacion en tejido para identificacion visual	Edvardsen	2014	Plos ONE	Noruega	Salmo salar	investigación	experimental
peces	CRISPR	slc45a2	regulador de la expresion genica de los genes inducidos para galactosa	Kimura	2014	Sci Rep	Japon	Danio rerio	investigación	experimental
peces	CRISPR	urod	silenciar el gen urod	Ablain	2015	Dev Cell	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	experimental
peces	CRISPR	Aldha1	Controlar el tiempo específico de inicio de la meiosis por sexo	Feng	2015	Sci Rep	China	Oreochromis niloticus	investigación	experimental
peces	CRISPR	Cyp26b1	Controlar el tiempo específico de inicio de la meiosis por sexo	Feng	2015	Sci Rep	China	Oreochromis niloticus	investigación	experimental
peces	CRISPR	tyrosine	reduccion de pigmentacion, ausencia de aletas pelvicas tejido ventralizado en la cola	Varshney	2015	Genome Res	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	experimental
peces	CRISPR	fgf24	reduccion de pigmentacion, ausencia de aletas pelvicas tejido ventralizado en la cola	Varshney	2015	Genome Res	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	experimental
peces	CRISPR	chordin	reduccion de pigmentacion, ausencia de aletas pelvicas tejido ventralizado en la cola	Varshney	2015	Genome Res	Estados Unidos	Danio rerio	investigación	experimental
peces	CRISPR	ca10a	Tejidos neuronales	Aspatwar	2015	PLoS ONE	Finlandia	Danio rerio	investigación	experimental

peces	CRISPR	ca10b	Tejidos neuronales	Aspatwar	2015	PLoS ONE	Finlandia	Danio rerio	investigación	experimental
peces	CRISPR	dnd	fenotipos albinos	Wargelius	2016	Sci Rep	Noruega	Salmo salar	investigación	experimental
peces	CRISPR	slc45a2	fenotipos albinos	Wargelius	2016	Sci Rep	Noruega	Salmo salar	investigación	experimental
peces	CRISPR	sp7	Formacion de hueso	Zhong	2016	Sci Rep	China	Cyprinus carpio	investigación	experimental
peces	CRISPR	runx2	Formacion de hueso	Zhong	2016	Sci Rep	China	Cyprinus carpio	investigación	experimental
peces	CRISPR	bmp2a	Formacion de hueso	Zhong	2016	Sci Rep	China	Cyprinus carpio	investigación	experimental
peces	CRISPR	spp1	Formacion de hueso	Zhong	2016	Sci Rep	China	Cyprinus carpio	investigación	experimental
peces	CRISPR	opg	Formacion de hueso	Zhong	2016	Sci Rep	China	Cyprinus carpio	investigación	experimental
peces	CRISPR	Ptgfr	Cambio en comportamiento sexual	Juntti	2016	Curr Biol	Estados Unidos	Astatotilapia burtoni	investigación	experimental
peces	CRISPR	aldh1a2	Modificacion en la iniciacion meiotica	Li	2016	Gen Comp Endocrinol	China	Silurus meridionalis	investigación	experimental
peces	CRISPR	cyp26a1	Modificacion en la iniciacion meiotica	Li	2016	Gen Comp Endocrinol	China	Silurus meridionalis	investigación	experimental
peces	CRISPR	cyp26b1	Modificacion en la iniciacion meiotica	Li	2016	Gen Comp Endocrinol	China	Silurus meridionalis	investigación	experimental
peces	CRISPR	LWS	Modificacion de celulas receptoras de pigmentos visuales	Homma	2017	BMC Genetics	Japon	Oryzias latipes	investigación	experimental
peces	CRISPR	LWS	Modificacion de celulas receptoras de pigmentos visuales	Homma	2017	BMC Genetics	Japon	Oryzias latipes	investigación	experimental
peces	CRISPR	eEF1A1b	Modificacion desarrollo gonadal	Chen	2017	Sci Rep	China	Oreochromis niloticus	Investigación	experimental
peces	CRISPR	mtp1	Expresion en la detoxificacion	Tian	2017	Aquat Toxicol	China	Danio rerio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	esr1	Reproduccion	Lu	2017	Endocrinology	China	Danio rerio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	esr2a	Reproduccion	Lu	2017	Endocrinology	China	Danio rerio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	esr2b	Reproduccion	Lu	2017	Endocrinology	China	Danio rerio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	mstn	tamaño y sistema inmune	Wang	2018	Fish Shellfish Immunol	China	Danio rerio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	mstn	tamaño y sistema inmune	Wang	2018	Fish Shellfish Immunol	China	Danio rerio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	lcp1	Proteinas plastinas asociadas a citoesqueleto	Kell	2018	PLoS ONE	Estados Unidos	Danio rerio	Investigación	experimental

peces	CRISPR	NHEJ	Proteína de choque térmico	Watakabe	2018	Zool Lett	Japon	Oryzias latipes	Investigación	experimental
peces	CRISPR	HRH3	Eliminación del receptor de la histamina	Puttonen	2018	Acta Physiol	Finlandia	Danio rerio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	Cre-loxp	Modificación de la expresión de la placa neural que se expresa durante el desarrollo temprano	Kesavan	2018	Cell Tissue Res	Alemania	Danio rerio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	Asip	Color de la piel	Chen	2019	Aquaculture	China	Cyprinus carpio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	vasa	Determinación del sexo	Li	2019	G3	China	Oreochromis niloticus	Investigación	experimental
peces	CRISPR	hdac4	Osificación de cartilagos	DeLaurier	2019	PeerJ	Estados Unidos	Danio rerio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	itln3	Modificación de la secreción de glucoproteínas, tráfico de leucocitos y reconocimiento microbiano	Ojanen	2019	Sci Rep	Finlandia	Danio rerio	Investigación	experimental
peces	CRISPR	CDKN2A	Modificación de supresor tumoral de melanoma humano	Regneri	2019	Pigment Cell Melanoma Res	Alemania	Oryzias latipes	Investigación	experimental
peces	CRISPR	CDKN2A	Modificación de supresor tumoral de melanoma humano	Regneri	2019	Pigment Cell Melanoma Res	Alemania	Xiphophorus sp	Investigación	experimental
peces	CRISPR	GH	Crecimiento corporal	Hu	2019	Endocrinology	China	Danio rerio	Investigación	experimental
algas	Biobalística	ARG7	Growth in arginine free medium	Debuchy et al	1989	EMBO J	Suiza	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Transformación bacterial	CRY1-1	Resistance to cryptoleurine and emetine	Nelson et al	1994	Mol Cell Biol	Estados Unidos	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Transformación bacterial	Sh ble	Resistance to phleomycin	Stevens et al	1996	Mol Gen Genet	Suiza	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Biobalística	Sh ble	Growth rate	Kang et al	2015	Biotechnol Biofuels	Corea del sur	Nannochloropsis salina	Bioteología	Experimental
algas	Electroporación	aphVII	Resistance to hygromycin B	Vieler et al	2012	PLoS Genet	Estados Unidos	Nannochloropsis oceanica	investigación	Experimental
algas	Transformación bacterial	NptII	Resistance to G418	Yang et al	2015	Algal Res	China	Chlorella vulgaris	Bioteología	Experimental

algas	Transformacion bacterial	Neor	Resistance to G418	Hawkins & Nakamura	1999	Curr Microbiol	Japon	Chlorella vulgaris	Biocología	Experimental
algas	Transformacion bacterial	Neor	Resistance to G418	Hawkins & Nakamura	1999	Curr Microbiol	Japon	Chlorella sorokiniana	Biocología	Experimental
algas	Transformacion bacterial	Sh ble	Production of fGH	Kim et al	2002	Mar Biotechnol	Corea del sur	Chlorella ellipsoidea	Biocología	Experimental
algas	Biobalística	NIT1	Grow on nitrate medium	Dawson et al	1997	Curr Microbiol	Estados Unidos	Chlorella sorokiniana	investigación	Experimental
algas	CRISPR	MAA7	?	Shin et al	2016	Sci Rep	Corea del sur	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	CRISPR	CpSRP43	?	Shin et al	2016	Sci Rep	Corea del sur	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	CRISPR	ChIM	?	Shin et al	2016	Sci Rep	Corea del sur	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	TALEN	NAT	Lipid production	Daboussi et al	2014	Nat Commun	Francia	Phaeodactylum tricornutum	Biocología	Experimental
algas	CRISPR	PEPC1	Lipid accumulation rate	Kao & Ng	2017	Bioresour Technol	Taiwan	Chlamydomonas reinhardtii	Biocología	Experimental
algas	CRISPR	FKB12	?	Jiang	2014	Eukaryot Cell	Estados Unidos	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	CRISPR	ZEP	Production zeaxanthin/photosynthetic productivity	Baek et al	2016	Sci Rep	Corea del sur	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	CRISPR	CpF1SY	Production zeaxanthin/photosynthetic productivity	Baek et al	2016	Sci Rep	Corea del sur	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	CRISPR	Nitrate gene	?	Wang et al	2016	Plant J	China	Nannochloropsis oceanica	Biocología	Experimental
algas	CRISPR	HygR	?	Wang et al	2016	Plant J	China	Nannochloropsis oceanica	Biocología	Experimental
algas	CRISPR	ZnCys	Lipid production	Ajjawi et al	2017	Nat Biotechnol	Estados Unidos	Nannochloropsis gaditana	Biocología	Experimental
algas	Electroporacion	Sh ble	Nitrate and nitrite reductase activity	Kilian et al	2011	PNAS	Estados Unidos	Nannochloropsis oceanica	investigación	Experimental
algas	Biobalística	NIT1	Nitrate reductase activity	Kindle et al	1989	J Cell Biol	Estados Unidos	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Biobalística	OEE-1	Photosynthetic competence	Mayfield & Kindle	1990	PNAS	Estados Unidos	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Transformacion bacterial	nic-7	Resistance to 3-acetylpyridine	Ferris	1995	Genetics	Estados Unidos	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Biobalística	aadA	Resistance to spectinomycin	Cerutti et al	1997	Genetics	Estados Unidos	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental

algas	Transformacion bacterial	aphVIII	Resistance to paromomycin, kanamycin, and neomycin	Sizova et al	2001	Gene	Rusia	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Transformacion bacterial	aphVII	Resistance to hygromycin B	Berthold et al	2002	Protist	Alemania	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	NA	ALS	Resistance to sulfometuron methyl (SMM)	Kovar et al	2002	Plant J	Estados Unidos	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Electroporacion	hpd	Resistance to hygromycin B	Chow & Tung	1999	Plant Cell Rep	Hong Kong	Chlorella vulgaris	investigación	Experimental
algas	Electroporacion	CAT	Resistance to chloramphenicol	Niu et al	2011	Genet Mol Res	China	Chlorella vulgaris	investigación	Experimental
algas	Biobalística	PDS	Carotenoid production	Liu et al	2014	Appl Microbiol Biotechnol	China	Chlorella zofingiensis	Biotecnología	Experimental
algas	Electroporacion	PDS	Carotenoid production	Liu et al	2014	Appl Microbiol Biotechnol	China	Chlorella zofingiensis	Biotecnología	Experimental
algas	Electroporacion	Npt	Lipid production	Zhang et al	2014	Biotechnol Biofuels	China	Chlorella ellipsoidea	Biotecnología	Experimental
algas	Biobalística	Sh ble	Resistance to zeocin and phleomycin	Apt et al	1996	Mol Gen Genet	Estados Unidos	Phaeodactylum tricornutum	investigación	Experimental
algas	Biobalística	NptII	Resistance to neomycin	Zaslavskaja et al	2000	J Phycol	Estados Unidos	Phaeodactylum tricornutum	investigación	Experimental
algas	Biobalística	Sh ble	Resistance to phleomycin	De Riso et al	2009	Nucleic Acids Res	Italia	Phaeodactylum tricornutum	investigación	Experimental
algas	Biobalística	Sh ble	Lipid production	Hamilton et al	2014	Metab Eng	Inglaterra	Phaeodactylum tricornutum	Biotecnología	Experimental
algas	Electroporacion	Sh ble	Lipid production	Radakovits et al	2013	Nat Commun	Estados Unidos	Nannochloropsis gaditana	Biotecnología	Experimental
algas	Biobalística	Sh ble	Resistance to Zeocin	Kang et al	2015	Biotechnol Rep	Corea del sur	Nannochloropsis salina	investigación	Experimental
algas	Electroporacion	CAT	?	Geng et al	2004	Acta Bot Sin	China	Dunaliella salina	investigación	Experimental
algas	Electroporacion	Sh ble	Resistance to Zeocin	Sun et al	2005	Mol Biotechnol	China	Dunaliella salina	investigación	Experimental
algas	Electroporacion	NIA1	?	Sun et al	2006	Gene	China	Dunaliella viridis	investigación	Experimental
algas	Electroporacion	CAT	Carotenoid production	Sun et al	2008	Mar Biotechnol	China	Dunaliella salina	investigación	Experimental
algas	Biobalística	CAT	Lipid production	Talebi et al	2014	Biofuel Res J	Iran	Dunaliella salina	Biotecnología	Experimental
algas	Biobalística	PDS	Carotenoid production	Steinbrenner & Sandmann	2006	Appl Environ Microbiol	Alemania	Haematococcus pluvialis	Biotecnología	Experimental
algas	Transformacion bacterial	hpd	?	Kathiresan et al	2009	J Phycol	India	Haematococcus pluvialis	investigación	Experimental

algas	Transformacion bacterial	hpd	resistance to hygromycin,fluorescence	Kathiresan et al	2015	J Biotechnol	India	Haematococcus pluvialis	Biotecnología	Experimental
algas	Biobalística	Sh ble	?	Nymark et al	2016	Sci Rep	Noruega	Phaeodactylum tricornutum	Biotecnología	Experimental
algas	CRISPR	Sh ble	?	Nymark et al	2016	Sci Rep	Noruega	Phaeodactylum tricornutum	Biotecnología	Experimental
algas	Biobalística	ACCCase	Lipid production	Dunahay et al	1996	Appl Biochem Biotechnol	Estados Unidos	Cyclotella cryptica	Biotecnología	Experimental
algas	Biobalística	ACCCase	Lipid production	Dunahay et al	1996	Appl Biochem Biotechnol	Estados Unidos	Navicula saprophila	Biotecnología	Experimental
algas	Electroporacion	PDK	Lipid production	Ma et al	2014	Microb Cell Fact	China	Phaeodactylum tricornutum	Biotecnología	Experimental
algas	Electroporacion	ME	Lipid production	Xue et al	2016	Metab Eng	China	Phaeodactylum tricornutum	Biotecnología	Experimental
algas	Biobalística	GLIP	Lipid production	Trentacoste et al	2013	PNAS	Estados Unidos	Thalassiosira pseudonana	Biotecnología	Experimental
algas	Biobalística	atpB	photosynthetic capacity	Boynot et al	1998	Science	Inglaterra	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Biobalística	ppox	resistance to the porphyric herbicide S-23142	Randolph-Anderson et al	1993	Plant Mol Biol	Estados Unidos	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Transformacion bacterial	NIT	?	Kindle	1990	Genetics	Estados Unidos	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Transformacion bacterial	uidA	resistance to hygromycin,fluorescence	Kumar et al	2004	Plant Science	India	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Transformacion bacterial	GFP	resistance to hygromycin,fluorescence	Kumar et al	2004	Plant Science	India	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Transformacion bacterial	hpt	resistance to hygromycin,fluorescence	Kumar et al	2004	Plant Science	India	Chlamydomonas reinhardtii	investigación	Experimental
algas	Electroporacion	HBsAg	resistence to antibiotics	Geng et al	2003	J Appl Phycol	China	Dunaliella salina	investigación	Experimental
algas	NA	luciferase	fluorescence	Jarvis & Brown	1991	Curr Genet	Estados Unidos	Chlorella ellipsoidea	investigación	Experimental
algas	Biobalística	LacZ	?	Teng et al	2002	J Appl Phycol	China	Haematococcus pluvialis	investigación	Experimental
algas	Biobalística	GUS	resistence to Kanamycin	El-Sheekh	1999	Biol Plant	Egipto	Chlorella kessleri	investigación	Experimental
algas	Biobalística	NIT	nitrate reductase activity	Schiedlmeier et al	1994	PNAS	Estados Unidos	Volvox carteri	investigación	Experimental
algas	NA	nptII	resistence to antibiotics	ten Lohuis et al	1998	Plant J	Australia	Amphidinium spp	investigación	Experimental
algas	Biobalística	AHAS	resistence to herbicide sulfometuron methyl	Lapidot et al	2002	Plant Physiol	Israel	Porphyridium spp	investigación	Experimental

algas	Biobalística	aadA	resistance to spectinomycin and streptomycin	Doetsch et al	2001	Curr Genet	Estados Unidos	Euglena gracilis	investigación	Experimental
algas	Biobalística	GUS	resistance to herbicide	Tan et al	2005	J Microbiol	China	Dunaliella salina	investigación	Experimental
algas	Electroporación	GUS	?	Huang et al	1996	Bot Mar	Estados Unidos	Ulva lactuca	investigación	Experimental
algas	Biobalística	LacZ	expression of lacZ	Gan et al	2003	J Appl Phycol	China	Gracilaria changii		Experimental
algas	Biobalística	Sh ble	resistance to phleomycin and zeocin	Falciatore et al	1999	Mar Biotechnol	Italia	Phaeodactylum tricornutum		Experimental
algas	Electroporación	CAT	CAT activity	Kawata et al	2004	Mar Biotechnol	Japon	Spirulina platensis		Experimental
algas	Electroporación	NA	?	Thiel & Poo	1989	J Bacteriol	Estados Unidos	Anabaena sp		Experimental
algas	Mutagenesis	NA	?	Dzelzkalns & Bogorad	1986	J Bacteriol	Estados Unidos	Synechocystis sp		Experimental
moluscos	TALEN	nodal	Torsión del cuerpo	Huang et al.	2019	Mar Biotechnol	China	Haliotis discus hannai	Acuicultura	Experimental
moluscos	Electroporación	<i>B-gAL</i>	Expresión del gen	Lu et al.	1996	PNAS	Estados Unidos	Mulinia lateralis	Acuicultura	Experimental
moluscos	CRISPR	nodal	Forma del embrión	Lin & Su	2016	Dev Biol	Taiwan	Strongylocentrotus purpuratus	Investigación	Experimental
moluscos	Electroporación	APH	Resistencia a neomicina	Buchanan et al.	2001	Mar Biotechnol	Estados Unidos	Crassostrea virginica	Acuicultura	Experimental
moluscos	Microinyección	GH	Tasa de crecimiento	Chen et al.	2006	Aquaculture	China	Haliotis diversicolor supertexta	Acuicultura	Experimental
moluscos	Electroporación	GH	Fluorescencia larval	Chen et al.	2018	Front Physiol	China	Crassostrea gigas	Acuicultura	Experimental
moluscos	Electroporación	GFP	Expresión de catalasa	Tsai et al.	1997	Transgenic Res	Taiwan	Haliotis diversicolor supertexta	Acuicultura	Experimental
moluscos	Microinyección	GFP	Expresión de fluorescencia	Wang et al.	2003		China	Haliotis discus hannai	NA	NA
moluscos	Vector retroviral	GH	Ninguno	Kuznetsov et al.	2001	Russ J Dev Biol	Rusia	Mytilus galloprovincialis	Investigación	Experimental
moluscos	CRISPR	<i>Ctmb</i>	Expresión de fluorescencia	Perry & Henry	2015	Genesis	Estados Unidos	Crepidula fornicata	Investigación	Experimental
moluscos	CRISPR	<i>mCherry</i>	Expresión de fluorescencia	Perry & Henry	2015	Genesis	Estados Unidos	Crepidula fornicata	Investigación	Experimental
moluscos	CRISPR	mstn	Síntesis de fibras musculares y	You et al.	2019	Mar Biotechnol	China	Crassostrea gigas	Investigación	Experimental

moluscos	CRISPR	Twist	Síntesis de fibras musculares y	You et al.	2019	Mar Biotechnol	China	Crassostrea gigas	Investigación	Experimental
moluscos	Electroporación	GH	Crecimiento	Mancilla-Sánchez & Portillo-López	2017	Open Agric	Mexico	Haliotis rufescens	Acuicultura	Experimental
moluscos	Electroporación	GFP	Crecimiento	Mancilla-Sánchez & Portillo-López	2017	Open Agric	Mexico	Haliotis rufescens	Acuicultura	Experimental
moluscos	Vector retroviral	GH	Tasa de crecimiento; Expresión de catalasa	Tsai	2000	Mol Reprod Dev	China	Haliotis diversicolor supertexta	Investigación	Experimental
peces	Vector retroviral	Catalasa	Tasa de crecimiento; Expresión de catalasa	Tsai	2000	Mol Reprod Dev	China	Misgurnus anguillicaudatus	Investigación	Experimental
peces	Electroporación	α BMP2	Supervivencia (Peces) y desarrollo (ostra)	Thresher et al.	2009	Aquaculture	Australia	Ictalurus punctatus	Acuicultura	Experimental
peces	Electroporación	α BMP2	Supervivencia (Peces) y desarrollo (ostra)	Thresher et al.	2009	Aquaculture	Australia	Danio rerio	Acuicultura	Experimental
moluscos	Electroporación	GUS	Supervivencia (Peces) y desarrollo (ostra)	Thresher et al.	2009	Aquaculture	Australia	Crassostrea gigas	Acuicultura	Experimental
moluscos	Electroporación	HOXCG1	Supervivencia (Peces) y desarrollo (ostra)	Thresher et al.	2009	Aquaculture	Australia	Crassostrea gigas	Acuicultura	Experimental
moluscos	Electroporación	HOXCG3	Supervivencia (Peces) y desarrollo (ostra)	Thresher et al.	2009	Aquaculture	Australia	Crassostrea gigas	Acuicultura	Experimental
moluscos	Vector retroviral	NA	NA	Esponda & Guerra	2009	FBS Journal	España	Chamelea gallina	NA	NA
moluscos	Biobalística	<i>hsp+70</i>	Expresión de luminiscencia	Cadoret et al.	1997	J Biotechnol	Francia	Crassostrea gigas	Acuicultura	Experimental
moluscos	CRISPR	<i>Lsdia1</i>	Torción del cuerpo derecha/izquierda	Abe & Kuroda	2019	Development	Japon	Lymnaea stagnalis	Investigación	Experimental
moluscos	Electroporación	GFP	Expresión de bioluminiscencia. Resistencia a antibiótico G418	Buchanan	1999	PhD Tesis	Estados Unidos	Crassostrea virginica	Investigación	Experimental
moluscos	Electroporación	APH	Expresión de bioluminiscencia. Resistencia a antibiótico G418	Buchanan	1999	PhD Tesis	Estados Unidos	Crassostrea virginica	Investigación	Experimental
moluscos	Transfección	GFP	No hay	Guerra et al.	2005	Cell Biol Int	Chile	Mytilus galloprovincialis	Investigación	Experimental
moluscos	Transfección	GFP	No hay	Guerra et al.	2005	Cell Biol Int	Chile	Mytilus chilensis	Investigación	Experimental
moluscos	Transfección	GFP	No hay	Guerra et al.	2005	Cell Biol Int	Chile	Chamelea gallina	Investigación	Experimental

moluscos	Vector retroviral	<i>B-gAL</i>	B-Galactosidasa	Burns & Chen	1999	Patente	Estados Unidos	<i>Mulinia lateralis</i>	Biotecnología	Productiva
moluscos	Microinyección	<i>B-gAL</i>	Expresión B-galactosidasa	Cadoret et al.	1997	Mol Mar Biol Biotechnol	Francia	<i>Crassostrea gigas</i>	Biotecnología	Experimental
moluscos	Microinyección	<i>B-gAL</i>	Expresión B-galactosidasa	Cadoret et al.	1997	Mol Mar Biol Biotechnol	Francia	<i>Mytilus edulis</i>	Biotecnología	Experimental
Crustacea	CRISPR / Cas9	EcChi4	Respuesta Inmune	Gui	2016	GENES, GENOMES, GENETICS	China	<i>Exopalaemon carinicauda</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	GFP	Fluorescencia	Li	2000	MOLECULAR REPRODUCTION AND DEVELOPMENT	Taiwan	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	CRISPR / Cas9	Dfd	Responsable evitar la identidad antenal en los segmentos posteriores de la cabeza	Martin	2016	Current Biology	Estados Unidos	<i>Parhyale hawaiensis</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	CRISPR / Cas9	Antp	Responsable morfología de la garra y parte torácica del maxilípodo	Martin	2016	Current Biology	Estados Unidos	<i>Parhyale hawaiensis</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	CRISPR / Cas9	abd-A	Responsable patron posterior	Martin	2016	Current Biology	Estados Unidos	<i>Parhyale hawaiensis</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	CRISPR / Cas9	Scr	Responsable identidad híbrida en parte gnathal	Martin	2016	Current Biology	Estados Unidos	<i>Parhyale hawaiensis</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	CRISPR / Cas9	Ubx	Responsable desarrollo de branquias y para la represión del destino gnathal	Martin	2016	Current Biology	Estados Unidos	<i>Parhyale hawaiensis</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	CRISPR / Cas9	ABD-B	Responsable patron posterior	Martin	2016	Current Biology	Estados Unidos	<i>Parhyale hawaiensis</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	IHHNV	NA	Dhar	2008	Diseases in Asian Aquaculture VI	Estados Unidos	<i>Penaeus vannamei</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	LvRab7	Rab7 gene silencing has shown an impact against the replication of WSSV	Alvarez- Ruiz	2015	Journal of the World Aquaculture Society	Mexico	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	RanGTPase	NA	Ha	2013	Journal of the World Aquaculture Society	China	<i>Marsupenaeus japonicus</i>	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	EF-1a	NA	Yazawa	2005	Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative	Japon	<i>Penaeus monodon</i>	Investigación	Experimental

						Experimental Biology				
Crustacea	Transgenesis	EF-1a	NA	Yazawa	2005	Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology	Japon	Penaeus monodon	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	GFP	NA	Yazawa	2005	Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology	Japon	Penaeus monodon	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	GFP	NA	Yazawa	2005	Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology	Japon	Penaeus monodon	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	plasmid pHFL1.supF	NA	Preston	2000	Aquaculture	Australia	Penaeus japonicus	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	plasmid pHFL1.supF	NA	Preston	2000	Aquaculture	Australia	Penaeus japonicus	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	plasmid pHFL1.supF	NA	Preston	2000	Aquaculture	Australia	Penaeus japonicus	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	pFLAG	NA	Tseng	2000	Theriogenology	Taiwan	Penaeus monodon	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	phsp 70	NA	Gendreau	1995	Aquaculture	Francia	Artemia franciscana	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	LvRab7	Rab7 gene silencing has shown an impact against the replication of WSSV	Alvarez- Ruiz	2013	Aquaculture Research	Mexico	Litopenaeus vannamei	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	PmRab7	Rab7 gene silencing has shown an impact against the replication of WSSV	Attasart	2009	Virus Research	Tailandia	Penaeus monodon	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	FcTetraspanin-3	FcTetraspanin-3 gene silencing has shown an impact against the replication of WSSV	Gui	2012	Fish & Shellfish Immunology	China	Fenneropenaeus chinensis	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	PK	Penaeus chinensis can be protected against WSSV	Kim	2007	Fish & Shellfish Immunology	Corea del Sur	Penaeus chinensis	Investigación	Experimental

			infection by intramuscular injection							
Crustacea	(RNAi)	PmRab7	Rab7 gene silencing has shown an impact against the replication of WSSV o YHV	Ongvarrasopona	2008	Marine Biotechnology	Tailandia	Penaeus monodon	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	PmRab7	Rab7 gene silencing has shown an impact against the replication of LSNV	Ongvarrasopona	2010	Antiviral Research	Tailandia	Penaeus monodon	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	LvRab7	Rab7 gene silencing has shown an impact against the replication of Taura Syndrome	Ongvarrasopona	2011	Archives of Virology	Tailandia	Litopenaeus vannamei	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	Caspase-3	Caspase-3 gene silencing has shown an impact against the replication of WSSV	Rijiravanich	2008	Fish & Shellfish Immunology	Tailandia	Litopenaeus vannamei	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	dnapol	Inhibición del virus del síndrome de la mancha blanca	Wu	2007	Aquaculture	China	Litopenaeus vannamei	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	rr2	Inhibición del virus del síndrome de la mancha blanca	Wu	2007	Aquaculture	China	Litopenaeus vannamei	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	tk-tmk	Inhibición del virus del síndrome de la mancha blanca	Wu	2007	Aquaculture	China	Litopenaeus vannamei	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	vp24	Inhibición del virus del síndrome de la mancha blanca	Wu	2007	Aquaculture	China	Litopenaeus vannamei	Investigación	Experimental
Crustacea	(RNAi)	vp28	Inhibición del virus del síndrome de la mancha blanca	Wu	2007	Aquaculture	China	Litopenaeus vannamei	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	H2B-GFP	Fluorescencia	Kato	2012	Plos One	Japon	Daphnia magna	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	EF1 α -1	NA	Kato	2012	Plos One	Japon	Daphnia magna	Investigación	Experimental
Crustacea	TALEN	hER α	mostrar una respuesta de fluorescencia a la exposición de estrógenos	Torner	2018	Plos One	Japon	Daphnia magna	Investigación	Experimental
Crustacea	TALEN	Dll	desarrollo de la extremidad distal	Hiruta	2014	BCM Biotechnology	Japon	Daphnia pulex	Investigación	Experimental

Crustacea	(CRISPR / Cas-mediated knock-in)	Dma-ey	fenotipo típico del mutante sin ojos , es decir, deformidad ocular	Kumagai	2017	Plos One	Japon	Daphnia magna	Investigación	Experimental
Crustacea	CRISPR / Cas9	Dma-ey	fenotipo típico del mutante sin ojos , es decir, deformidad ocular	Nakanishi	2014	Plos One	Japon	Daphnia magna	Investigación	Experimental
Crustacea	TALEN	Dma-ey	fenotipo típico del mutante sin ojos , es decir, deformidad ocular	Nakanishi	2016	Scientific Reports	Japon	Daphnia magna	Investigación	Experimental
Crustacea	Transgenesis	TSV-CP	Resistencia a infección TSV	Lu	2005	Antiviral Research	Estados Unidos	Litopenaeus vannamei	Investigación	Experimental
Crustacea	TALEN	Dma-ey	Formación del ojo	Nakanishi	2015	Scientific Reports	Japon	Daphnia magna	Investigación	Experimental
Crustacea	TALEN	DsRed2	Fluorescencia	Naitou	2015	The Company of Biologists	Japon	Daphnia magna	Investigación	Experimental
Equinodermo	CRISPR/Cas9	PKS	Pigmentación	Wessel	2020	Nature research	Estados Unidos	Hemicentrotus pulcherrimus	Investigación	Experimental
Equinodermo	CRISPR/Cas9	FMO3	Pigmentación	Wessel	2020	Nature research	Estados Unidos	Hemicentrotus pulcherrimus	Investigación	Experimental
Equinodermo	CRISPR/Cas9	GCM	Pigmentación	Wessel	2020	Nature research	Estados Unidos	Hemicentrotus pulcherrimus	Investigación	Experimental
Equinodermo	CRISPR/Cas9	SP-Delta	regulación de neurogenesis	Mellott	2017	Development	Canada	Strongylocentrotus purpuratus	Investigación	Experimental
Equinodermo	CRISPR/Cas9	SpNodal	patrón dorsoventral en embriones de erizo de mar	Lin	2016	Developmental Biology	Taiwan	Strongylocentrotus purpuratus	Investigación	Experimental
Equinodermo	TALEN	HpEts	especificación de células primarias de mesénquima (PMC) en embriones de erizo de mar	Hosoi	2013	Development, Growth & Differentiation	Japon	Hemicentrotus pulcherrimus	Investigación	Experimental
Equinodermo	ZFN	HpHesC	reprime varios genes del factor de transcripción responsables de la diferenciación de las células mesenquimáticas primarias (PMC) en el embrión de erizo de mar	Ochiai	2010	Genes to Cells	Japon	Hemicentrotus pulcherrimus	Investigación	Experimental
Equinodermo	ZFN	HpEts1	responsable de la diferenciación de PMC	Ochiai	2012	PNAS	Japon	Hemicentrotus pulcherrimus	Investigación	Experimental
Equinodermo	ZFN	GFP	Fluorescencia	Ochiai	2012	PNAS	Japon	Hemicentrotus pulcherrimus	Investigación	Experimental
Equinodermo	CRISPR/Cas9	PKS-1	Pigmentación	Oulhen	2016	Mol Reprod Dev.	Estados Unidos	Hemicentrotus pulcherrimus	Investigación	Experimental

Equinodermo	CRISPR/Cas10	GCM	Pigmentación	Oulhen	2016	Mol Reprod Dev.	Estados Unidos	Hemicentrotus pulcherrimus	Investigación	Experimental
Equinodermo	CRISPR/Cas9-DA	SpAlx1	esqueletogénesis	Shevidi	2017	Developmental dynamics	Estados Unidos	Strongylocentrotus purpuratus	Investigación	Experimental
Equinodermo	CRISPR/Cas9-DA	SpDsh	especificación y gastrulación endomesodermal	Shevidi	2017	Developmental dynamics	Estados Unidos	Strongylocentrotus purpuratus	Investigación	Experimental
Equinodermo	Transgenesis	molecules of Cyllla- CAT DNA	NA	Franks	1988	Development	Estados Unidos	Lytechinus variegatus	Investigación	Experimental
Equinodermo	Transgenesis	CyI actin gene; Tn5 aminoglycoside 3' phosphotransferase (neo- mycin resistance) gene	NA	McMahon	1985	Developmental Biology	Estados Unidos	Strongylocentrotus purpuratus	Investigación	Experimental
Equinodermo	Transgenesis	CyIIIa · CAT fusion gene	NA	Hough-Evans	1988	Developmental Biology	Estados Unidos	Strongylocentrotus purpuratus	Investigación	Experimental
Equinodermo	Transgenesis	vsvG gene	<u>NA</u>	Core	2012	PNAS	Estados Unidos	Lytechinus variegatus	Investigación	Experimental
Equinodermo	Meganucleasas	HpTb; HpArs; HpSM50	NA	Ochiai	2008	Development Dynamics	Japon	Hemicentrotus pulcherrimus	Investigación	Experimental

REFERENCIAS

- Abe, M., & Kuroda, R. (2019). The development of CRISPR for a mollusc establishes the formin *Lsdia1* as the long-sought gene for snail dextral/sinistral coiling. *Development* 146, doi: 10.1242/dev.175976.
- Ablain, J., Durand, E. M., Yang, S., Zhou, Y., & Zon, L. I. (2015). A CRISPR/Cas9 vector system for tissue-specific gene disruption in zebrafish. *Developmental Cell*, 32(6), 756–764. doi: 10.1016/j.devcel.2015.01.032
- Ajjawi, I., Verruto, J., Aqui, M., Soriaga, L. B., Coppersmith, J., Kwok, K., ... Moellering, E. R. (2017). Lipid production in *Nannochloropsis gaditana* is doubled by decreasing expression of a single transcriptional regulator. *Nature Biotechnology*, 35(7), 647–652. <https://doi.org/10.1038/nbt.3865>
- Alam, M. D. S., Popplewell, A., & Maclean, N. (1996). Germ line transmission and expression of a lacZ containing transgene in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Transgenic Research*, 5(2), 87–95. doi: 10.1007/BF01969426
- Alimuddin, G.Y., Kiron, V., Satoh, S., Takeuchi, T. (2005). Enhancement of EPA and DHA biosynthesis by over-expression of masu salmon n-6-desaturase-like gene in zebrafish. *Transgenic Res*, 14(2), 159–65.
- Alvarez-Ruiz, P., Luna-González, A., Escamilla-Montes, R., Mejía-Ruiz, C.H., Magallón-Barajas, F.J., Llera-Herrera, R. & Galván-Alvarez, D.A. (2015), Long-lasting Effect Against White Spot Syndrome Virus in Shrimp Broodstock, *Litopenaeus vannamei*, by LvRab7 Silencing. *J World Aquacult Soc*, 46, 571-582. doi:10.1111/jwas.12236
- Álvarez-Ruiz, P., Mejía-Ruiz, C.H., Magallón-Barajas, F.J., & Escobedo-Bonilla, C.M. (2013). Silencing Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* LvRab7 reduces mortality in brooders challenged with white spot syndrome virus. *Aquac Res*, 44, 772-782. doi:10.1111/j.1365-2109.2011.03084.x
- Apt, K. E., Kroth-Pancic, P. G., & Grossman, A. R. (1996). Stable nuclear transformation of the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Molecular and General Genetics*, 252(5), 572–579. <https://doi.org/10.1007/s004380050264>
- Armaleo D, Ye GN, Klein TM, Shark KB, Sanford JC, Johnston SA (1990) Biolistic nuclear transformation of *Saccharomyces cerevisiae* and other fungi. *Curr Genet* 17:97–103
- Aspatwar, A., Tolvanen, M. E. E., Ojanen, M. J. T., Barker, H. R., Saralahti, A. K., Bäuerlein, C. A., ... Parkkila, S. (2015). Inactivation of *Ca10a* and *Ca10b* genes leads to abnormal embryonic development and alters movement pattern in zebrafish. *PLoS ONE*, 10(7), 1–27. doi: 10.1371/journal.pone.0134263
- Assem, S.S. & El-Zaeem, S.Y. (2005). Application of biotechnology in fish breeding. II: production of highly immune genetically modified redbelly tilapia, *Tilapia zillii*. *Afr J Biotechnol*, 4(5), 449– 59.

- Auer, T. O., Durooure, K., De Cian, A., Concordet, J. P., & Del Bene, F. (2014). Highly efficient CRISPR/Cas9-mediated knock-in in zebrafish by homology-independent DNA repair. *Genome Research*, 24(1), 142–153. doi: 10.1101/gr.161638.113
- Baek, K., Kim, D. H., Jeong, J., Sim, S. J., Melis, A., Kim, J. S., ... Bae, S. (2016). DNA-free two-gene knockout in *Chlamydomonas reinhardtii* via CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins. *Scientific Reports*, 6, 1–7. <https://doi.org/10.1038/srep30620>
- Barman, H. K., Rasal, K. D., Chakrapani, V., Ninawe, A. S., Vengayil, D. T., Asrafuzzaman, S., Jayasankar, P. (2017). Gene editing tools: state-of-the-art and the road ahead for the model and non-model fishes. *Transgenic Research*, 26(5), 577–589. doi: 10.1007/s11248-017-0030-5
- Berthold, P., Schmitt, R., & Mages, W. (2002). An engineered *Streptomyces hygroscopicus* aph 7" gene mediates dominant resistance against hygromycin B in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Protist*, 153(4), 401–412. <https://doi.org/10.1078/14344610260450136>
- Boynton, E., Gillham, N. W., Harris, E. H., Hosler, J. P., Johnson, A. M., Jones, A. R., ... Sanford, J. C. (1988). Chloroplast transformation in *Chlamydomonas* with high velocity microprojectiles. *Science*, 148, 1534–1538. Retrieved from <http://www.sciencemag.org/content/240/4858/1534.long>
- Brem, G., Brenig, B., Hörstgen-Schwark, G., & Winnacker, E. L. (1988). Gene transfer in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 68(3), 209–219. doi: 10.1016/0044-8486(88)90354-7
- Bruijn, E. De, Cuppen, E., & Feitsma, H. (2009). Highly Efficient ENU Mutagenesis in Zebrafish. In G. Lieschke, A. Oates, & K. Kawakami (Eds.), *Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)* (Vol. 546, pp. 3–12). doi: 10.1007/978-1-60327-977-2
- Buchanan, J. T. (1999). Production of Transgenic Eastern Oysters. & quot; PhD. Thesis. 7071. https://digitalcommons.lsu.edu/gradschool_disstheses/7071.
- Buchanan, J. T., Nickens, A. D., Cooper, R. K., & Tiersch, T. R. (2001). Transfection of eastern oyster (*Crassostrea virginica*) embryos. *Marine Biotechnology* 3, 322–335, DOI: 10.1007/s10126-001-0002-9.
- Buchanan, J.T., Nickens, A.D., Cooper, R.K., Tiersch, T.R. (2001). Transfection of eastern oyster (*Crassostrea virginica*) embryos. *Mar Biotechnol*, 3(4), 322–35.
- Burns, J. C., & Chen, T. T. (1999). Pantropic retroviral vectors for gene transfer in mollusk. Patent N° USOO5969211A.
- Burns, J.C., Chen, T.T., inventors; Ther Regents of the University of California and the University of Connecticut, assignee. (1999). Oct 19. Pantropic retroviral vectors for gene transfer in mollusks. U.S. patent 5,969,211.
- Bussmann, J., & Schulte-Merker, S. (2011). Rapid BAC selection for tol2-mediated transgenesis in zebrafish. *Development*, 138(19), 4327–4332. doi: 10.1242/dev.068080
- Cadoret J-P., Boulo, V., Gendreau, S., & Mialhe, E. (1997). Promoters from *Drosophila* heat shock protein and Cytomegalovirus drive transient expression of luciferase introduced by particle

- bombardment into embryos of the oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Biotechnology* 56(3), 183-189. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(97\)00118-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(97)00118-1).
- Cadoret, J. P., Gendreau, S., Delecheneau, J. M., Rousseau, C., & Mialhe, E. (1997). Microinjection of bivalve eggs: application in genetics. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 6(1), 72-77.
- Caelers, A., Maclean, N., Hwang, G., Eppler, E., Reinecke, M. (2005). Expression of endogenous and exogenous growth hormone (GH) messenger (m) RNA in a GH-transgenic tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Transgenic Res*, 14(1), 95–104.
- Cerda GA, Thomas JE, Allende ML, Karlstrom RO , Palma V . (2006). Electroporation of DNA, RNA, and morpholinos into zebrafish embryos . *Methods*, 39, 207 – 11.
- Cerutti, H., Johnson, A. M., Gillham, N. W., & Boynton, J. E. (1997). A eubacterial gene conferring spectinomycin resistance on *Chlamydomonas reinhardtii*: Integration into the nuclear genome and gene expression. *Genetics*, 145(1), 97–110.
- Chan AW, Chong KY, Martinovich C, Simerly C, Schatten G. Transgenic monkeys produced by retroviral gene transfer into mature oocytes. *Science*. 2001; 291:309–12.
- Chen TT , Powers DA . (1990) . Transgenic fish . *Trends Biotechnol* , 8 , 209 – 15.
- Chen, C. H., Puliafito, A., Cox, B. D., Primo, L., Fang, Y., Di Talia, S., & Poss, K. D. (2016). Multicolor Cell Barcoding Technology for Long-Term Surveillance of Epithelial Regeneration in Zebrafish. *Developmental Cell*, 36(6), 668–680. doi: 10.1016/j.devcel.2016.02.017
- Chen, H., Wang, J., Du, J., Si, Z., Yang, H., Xu, X., & Wang, C. (2019). ASIP disruption via CRISPR/Cas9 system induces black patches dispersion in Oujiang color common carp. *Aquaculture*, 498(August 2018), 230–235. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.08.057
- Chen, H-L., Yang, H-S., Huang, R., Tsai, H-J. (2006). Transfer of a foreign gene to Japanese abalone (*Haliotis diversicolor supertexta*) by direct testis-injection. *Aquaculture* 253, 249–258.
- Chen, I., Dubnau, D. DNA uptake during bacterial transformation. *Nat Rev Microbiol* 2, 241–249 (2004). <https://doi.org/10.1038/nrmicro844>
- Chen, J., Jiang, D., Tan, D., Fan, Z., Wei, Y., Li, M., & Wang, D. (2017). Heterozygous mutation of eEF1A1b resulted in spermatogenesis arrest and infertility in male tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Scientific Reports*, 7(June 2016), 1–15. doi: 10.1038/srep43733
- Chen, J., Wu, C., Zhang, B., Cai, Z., Wei, L., Li, Z., Li, G., Guo, T., Li, Y., Guo, W., & Wang, X. (2018). PiggyBac transposon-mediated transgenesis in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) – first time in mollusks. *Frontiers in Physiology* 9(811), 1-8. doi: 10.3389/fphys.2018.00811.
- Chen, T.T., Lin, C.M., Dunham, R.A., Powers, D.A. (1992). Integration, expression and inheritance of foreign fish growth hormone gene in transgenic fish. In: Hew CL, Fletcher, G.L., editors. *Transgenic fish*. Singapore: *World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.* p 27–43.

- Cheng L, Ziegelhoffer PR, Yang NS (1993) In vivo promoter activity and transgene expression in mammalian somatic tissues evaluated by using particle bombardment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:4455–4459
- Chisada, S. ichi, Okamoto, H., Taniguchi, Y., Kimori, Y., Toyoda, A., Sakaki, Y., ... Yoshiura, Y. (2011). Myostatin-deficient medaka exhibit a double-muscling phenotype with hyperplasia and hypertrophy, which occur sequentially during post-hatch development. *Developmental Biology*, 359(1), 82–94. doi: 10.1016/j.ydbio.2011.08.027
- Cho, Y. S., Kim, D. S., & Nam, Y. K. (2013). Characterization of estrogen-responsive transgenic marine medaka *Oryzias dancena* germlines harboring red fluorescent protein gene under the control by endogenous choriogenin H promoter. *Transgenic Research*, 22(3), 501–517. doi: 10.1007/s11248-012-9650-y
- Chourrout, D., Guyomard, R., & Houdebine, L. M. (1986). High efficiency gene transfer in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) by microinjection into egg cytoplasm. *Aquaculture*, 51(2), 143–150. doi: 10.1016/0044-8486(86)90135-3
- Chow, K. C., & Tung, W. L. (1999). Electrotransformation of *Chlorella vulgaris*. *Plant Cell Reports*, 18(9), 778–780. <https://doi.org/10.1007/s002990050660>
- Cook, J.T., McNiven, M.A., Richardson, G.F., Sutterlin, A.M. (2000). Growth rate, body composition and feed digestibility/conversion of growth-enhanced transgenic Atlantic salmon. *Aquaculture*, 188,15–32.
- Core, A.B, Reyna, A.E., Conaway, E.A., & Bradham, C.A. (2012). Pantropic retroviruses as a transduction tool for sea urchin embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109 (14) 5334-5339; DOI: 10.1073/pnas.1117846109
- Cota, C. D., & Davidson, B. (2015). Mitotic membrane turnover coordinates differential induction of the heart progenitor lineage. *Developmental Cell* 34, 505–519. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.07.001>.
- Council of Agricultural Science and Technology (CAST), Production of transgenic animals by somatic cell nuclear transfer in Animal Agriculture's Future through biotechnology 2007; 35:6.
- Cvejic, A., Hall, C., Bak-Maier, M., Flores, M. V., Crosier, P., Redd, M. J., & Martin, P. (2008). Analysis of WASp function during the wound inflammatory response - Live-imaging studies in zebrafish larvae. *Journal of Cell Science*, 121(19), 3196–3206. doi: 10.1242/jcs.032235
- Daboussi, F., Leduc, S., Maréchal, A., Dubois, G., Guyot, V., Perez-Michaut, C., ... Duchateau, P. (2014). Genome engineering empowers the diatom *Phaeodactylum tricornutum* for biotechnology. *Nature Communications*, 5(May), 1–7. <https://doi.org/10.1038/ncomms4831>
- Dahm, R., & Geisler, R. (2006). Learning from small fry: The zebrafish as a genetic model organism for aquaculture fish species. *Marine Biotechnology*, 8(4), 329–345. doi: 10.1007/s10126-006-5139-0

- Davidson, A. E., Balciunas, D., Mohn, D., Shaffer, J., Hermanson, S., Sivasubbu, S., ... Ekker, S. C. (2003). Efficient gene delivery and gene expression in zebra fish using the Sleeping Beauty transposon. *Developmental Biology*, 263, 191–202. doi: 10.1016/S0012-1606(03)00439-1
- Dawson, H. N., Burlingame, R., & Cannons, A. C. (1997). Stable transformation of *Chlorella*: Rescue of nitrate reductase-deficient mutants with the nitrate reductase gene. *Current Microbiology*, 35(6), 356–362. <https://doi.org/10.1007/s002849900268>
- De Riso, V., Raniello, R., Maumus, F., Rogato, A., Bowler, C., & Falciatore, A. (2009). Gene silencing in the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*. *Nucleic Acids Research*, 37(14). <https://doi.org/10.1093/nar/gkp448>
- Debuchy, R., Purton, S., & Rochaix, J. D. (1989). The argininosuccinate lyase gene of *Chlamydomonas reinhardtii*: an important tool for nuclear transformation and for correlating the genetic and molecular maps of the ARG7 locus. *The EMBO Journal*, 8(10), 2803–2809. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1989.tb08426.x>
- DeLaurier, A., Alvarez, C. L., & Wiggins, K. J. (2019). HDAC4 mediates perichondral ossification and pharyngeal skeleton development in the zebrafish. *PeerJ*, 2019(1). doi: 10.7717/peerj.6167
- Devlin, R.H., Yesaki, T.Y., Donaldson, E.M., Du, S.J., Hew, C.L. (1995). Production of germline transgenic Pacific salmonids with dramatically increased growth performance. *Can J Fish Aquat Sci*, 52, 1376–84.
- Dhar, A.K., Moss, R.J., Allnut, F.C.T. (2006). Internal ribosomal entry site (IRES)-based shrimp expression vector for heterologous protein production in shrimp. *Meeting Abstract #487*. AQUA, Florence, Italy, May 10–13.
- Dhar, A.K., Moss, R.J., Bullis, R.A., Allnut, F.C.T. (2005). Transient expression of a heterologous gene driven by promoters isolated from infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) of shrimp. *Presented at the 6th Symposium on Diseases of Asian Aquaculture*, Colombo, Sri Lanka, October 25–28.
- Dhar, A.K., Van Beek, N.A.M., Moss, R.J., Bullis, R.A., & Allnut, F.C.T. (2008). Transient Expression of a Heterologous Gene Driven by Promoters Isolated from Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHHNV) of Shrimp. pp. 441-450. In Bondad-Reantaso, M.G., Mohan, C.V., Crumlish, M. and Subasinghe, R.P. (eds.). *Diseases in Asian Aquaculture VI*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Doetsch, N. A., Favreau, M. R., Kuscuoglu, N., Thompson, M. D., & Hallick, R. B. (2001). Chloroplast transformation in *Euglena gracilis*: Splicing of a group III twintron transcribed from a transgenic psbK operon. *Current Genetics*, 39(1), 49–60. <https://doi.org/10.1007/s002940000174>
- Dong, Z., Ge, J., Li, K., Xu, Z., Liang, D., Li, J., ... Zhao, Q. (2011). Heritable targeted inactivation of myostatin gene in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) using engineered zinc finger nucleases. *PLoS ONE*, 6(12), 1–7. doi: 10.1371/journal.pone.0028897

- Draper, B. W., McCallum, C. M., & Moens, C. B. (2007). Nanos1 Is Required To Maintain Oocyte Production in Adult Zebrafish. *Developmental Biology*, 305(2), 589–598. doi: 10.1016/j.ydbio.2007.03.007
- Du, S. J., Gong, Z., Fletcher, G. L., Shears, M. A., King, M. J., Idler, D., & Hew, C. L. (1983). Growth enhancement in transgenic atlantic salmon by the use of an all fish chimeric growth hormone gene construct. *Bio/Technology* (New York, N.Y. 1983), 10(2), 176–181.
- Du, S.J., Gong, Z., Fletcher, G.L., Shears, M.A., King, M.J., Idler, D.R., Hew, C.L. (1992). Growth enhancement in transgenic Atlantic salmon by the use of an “all fish” chimeric growth hormone gene construct. *Biotechnology*, 10, 176–81.
- Dunahay, T. G., Jarvis, E. E., Dais, S. S., & Roessler, P. G. (1996). Manipulation of microalgal lipid production using genetic engineering. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology*, 57–58, 223–231. <https://doi.org/10.1007/BF02941703>
- Dunham, R. A., Eash, J., Askins, J., & Townes, T. M. (1987). Transfer of the Metallothionein-Human Growth Hormone Fusion Gene into Channel Catfish. *Transactions of the American Fisheries Society*, (January 2015), 97–91. doi: 10.1577/1548-8659(1987)116
- Dunham, R.A. (2005). Cecropin transgenic catfish and studies toward commercial application. *Transgenic Animal Research Conference V*, Tahoe City, Calif., August 14–18.
- Dunham, R.A., Chatakondi, N., Nichols, A.J., Kucuktas, H., Chen, T.T., Powers, D.A., Weete, J.D., Cummins, K., Lovell, R.T. (2002a). Effect of rainbow trout growth hormone complementary DNA on body shape, carcass yield, and carcass composition of F1 and F2 transgenic common carp (*Cyprinus carpio*). *Mar Biotechnol* 4(6):604–11.
- Dunham, R.A., Ramboux, A.C., Duncan, P.L., Hayat, M., Chen, T.T., Lin, C.M., ... Powers DA. (1992). Transfer, expression, and inheritance of salmonid growth hormone genes in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, and effects on performance traits. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 1(4–5), 380–9.
- Dunham, R.A., Warr, G.W., Nichols, A., Duncan, P.L., Argue, B., Middleton, D., Kucuktas, H. (2002b). Enhanced bacterial disease resistance of transgenic channel catfish *Ictalurus punctatus* possessing cecropin genes. *Mar Biotechnol*, 4(3), 338–44.
- Dzelzkalns, V. A., & Bogorad, L. (1986). Stable transformation of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 induced by UV irradiation. *Journal of Bacteriology*, 165(3), 964–971. <https://doi.org/10.1128/jb.165.3.964-971.1986>
- Edvardsen, R. B., Leininger, S., Kleppe, L., Skaftnesmo, K. O., & Wargelius, A. (2014). Targeted mutagenesis in atlantic salmon (*Salmo salar* L.) using the CRISPR/Cas9 system induces complete knockout individuals in the F0 Generation. *PLoS ONE*, 9(9). doi: 10.1371/journal.pone.0108622
- El-Sheekh, M. M. (1999). Stable transformation of the intact cells of *Chlorella kessleri* with high velocity microprojectiles. *Biologia Plantarum*, Vol. 42, pp. 209–216. <https://doi.org/10.1023/A:1002104500953>

- El-Zaeem, S.Y. & Assem, S.S. (2004). Application of biotechnology in fish breeding I: production of highly immune genetically modified Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, with accelerated growth by direct injection of shark DNA into skeletal muscles. *Egypt J Aquat Biol Fish*, 8(3), 67–92.
- Emelyanov, A., Gao, Y., Naqvi, N. I., & Parinov, S. (2006). Trans-kingdom transposition of the maize Dissociation element. *Genetics*, 174(3), 1095–1104. doi: 10.1534/genetics.106.061184
- Esponda, P., & Guerra, R. (2009). Transfection of spermatozoa and production of transgenic embryos and larvae in Bivalve Molluscs. *FEBS Journal* 276, 276-276.
- Fadool, J. M., Hartl, D. L., & Dowling, J. E. (1998). Transposition of the mariner element from *Drosophila mauritiana* in zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(9), 5182–5186. doi: 10.1073/pnas.95.9.5182
- Falciatore, A., Casotti, R., Leblanc, C., Abrescia, C., & Bowler, C. (1999). Transformation of nonselectable reporter genes in marine diatoms. *Marine Biotechnology*, 1(3), 239–251. <https://doi.org/10.1007/PL00011773>
- FAO. (2000). The state of the world fisheries and aquaculture (SOFIA). FAO, Rome. Available from: http://www.fao.org/sof/sofia/index_en.htm.
- Feng, R., Fang, L., Cheng, Y., He, X., Jiang, W., Dong, R., ... Wang, D. (2015). Retinoic acid homeostasis through *aldh1a2* and *cyp26a1* mediates meiotic entry in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Scientific Reports*, 5(March), 1–12. doi: 10.1038/srep10131
- Ferris, P. J. (1995). Localization of the *nic-7*, *ac-29* and *thi-10* genes within the mating-type locus of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Genetics*, 141(2), 543–549.
- Fletcher, G. L., Shears, M. A., King, M. I., & Davies, P. L. (1988). Evidence for Antifreeze P transfer in At. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 45(710), 352–357.
- Fletcher, G.L., Shears, M.A., King, M.J., Goddard, S.V., Kao, M.H., Du, S.J., ... He, C.L. (1992). Biotechnology for aquaculture: transgenic salmon with enhanced growth and freezeresistance. *Bull Aquacult Assoc Can*, 92, 31–3.
- Fletcher, G.L., Shears, M.A., Yaskowiak, E.S., King, M.J., Goddard, S.V. (2004). Gene transfer: potential to enhance the genome of Atlantic salmon for aquaculture. *Aust J Exp Agri*, 44, 1095–1100.
- Follenzi A., Ailles LE., Bakovic S., Geuna M., Naldini L., Gene transfer by lentiviral vectors is limited by nuclear translocation and rescued by HIV-1 pol sequences, *Nat Genet* 2000; 25:217–22.
- Franks, R.R., Hough-Evans, B.R., Britten, R.J., & Davidson, E.H. (1998). Direct introduction of cloned DNA into the sea urchin zygote nucleus, and fate of injected DNA. *Development*, 102: 287-299.
- Fu, C., Cui, Y., Hung, S.S.O., Zhu, Z. (1998). Growth and feed utilization by F4 human growth hormone transgenic carp fed diets with different protein levels. *J Fish Biol*, 53, 115– 29.
- Fujimura, K., & Kocher, T. D. (2011). Tol2-mediated transgenesis in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 319(3–4), 342–346. doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.07.021

- Furuya M, Yasuchika K, Mizutani K, Yoshimura Y, Nakatsuji N, Suemori H: Electroporation of cynomolgus monkey embryonic stem cells. *Genesis* 2003, 37:180-187.
- Gan, S. Y., Qin, S., Othman, R. Y., Yu, D., & Phang, S. M. (2003). Transient expression of lacZ in particle bombarded *Gracilaria changii* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 15(4), 351–353. <https://doi.org/10.1023/A:1025170010916>
- Gandhi, S., Razy-Krajka, F., Christiaen, L., & Stolfi, A. (2018). CRISPR knockouts in Ciona embryos. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1029, 141–152. doi:10.1007/978-981-10-7545-2_13.
- Gehl J: Electroporation: theory and methods, perspectives for drug delivery, gene therapy and research. *Acta Physiol Scand* 2003, 177:437-447
- Gendreau, S., Lardans, V., Cadoret, J.P. & Mialhe, E. (1995). Transient expression of a luciferase reporter gene after ballistic introduction into *Artemia franciscana* (Crustacea) embryos, *Aquaculture*, 133, 199-205, ISSN 0044-8486, [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00369-Y](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00369-Y).
- Geng, D. G., Han, Y., Wang, Y. Q., Wang, P., Zhang, L. M., Li, W. Bin, & Sun, Y. R. (2004). Construction of a system for the stable expression of foreign genes in *Dunaliella salina*. *Acta Botanica Sinica*, 46(3), 342–346.
- Geng, D., Wang, Y., Wang, P., Li, W., & Sun, Y. (2003). Stable expression of hepatitis B surface antigen gene in *Dunaliella salina* (Chlorophyta). *Journal of Applied Phycology*, 15(6), 451–456. <https://doi.org/10.1023/B:JAPH.0000004298.89183.e5>
- Glogauer M, McCulloch CA: Introduction of large molecules into viable fibroblasts by electroporation: optimization of loading and identification of labeled cellular compartments. *Exp Cell Res* 1992, 200:227-234
- Gong, Z., Wan, H., Tay, T. L., Wang, H., Chen, M., & Yan, T. (2003). Development of transgenic fish for ornamental and bioreactor by strong expression of fluorescent proteins in the skeletal muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 308(1), 58–63. doi: 10.1016/S0006-291X (03)01282-8
- Gordon JW, Scangos GA, Plotkin DJ, Barbosa JA, Ruddle FH. Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1980; 77:7380–4.
- Gross, M.L., Schneider, J.F., Moav, N., Moav, B., Alvarez, C., Myster, S.H., ... Kapuscinski, A.R. (1992). Molecular analysis and growth evaluation of northern pike (*Esox lucius*) microinjected with growth hormone genes. *Aquaculture*, 103(3–4), 253–73.
- Guan, G., Zhang, X., Naruse, K., Nagahama, Y., & Hong, Y. (2014). Gene Replacement by Zinc Finger Nucleases in Medaka Embryos. *Marine Biotechnology*, 16(6), 739–747. doi: 10.1007/s10126-014-9587-7
- Guerra, R., Carballada, R., & Esponda, P. (2005). Transfection of spermatozoa in bivalve molluscs using naked DNA. *Cell Biology International* 29, 159-164. doi:10.1016/j.cellbi.2004.11.018.

- Gui, L., Wang, B., Li, F.H., Sun, Y.M., Luo, Z., & Xiang, J.H. (2012). Blocking the large extracellular loop (LEL) domain of FcTetraspanin-3 could inhibit the infection of white spot syndrome virus (WSSV) in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Fish & Shellfish Immunology*, 32 (6), 1008-1015, ISSN 1050-4648. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.02.022>.
- Gui, T., Zhang, J., Song, F., Sun, Y., Xie, S., Yu, K., & Xiang, J. (2016). CRISPR/Cas9-Mediated Genome Editing and Mutagenesis of EcChi4 in *Exopalaemon carinicauda*. *G3 (Bethesda, Md.)*, 6(11), 3757–3764. <https://doi.org/10.1534/g3.116.034082>
- Guo, Q., Wang, Y., Jia, W., & Zhu, Z. (2003). Transgene for growth hormone in common carp (*Cyprinus carpio* L.) promotes thymus development. *Chinese Science Bulletin*, 48(16), 1764–1770. doi: 10.1360/02wc0549
- Hamilton, M. L., Haslam, R. P., Napier, J. A., & Sayanova, O. (2014). Metabolic engineering of *Phaeodactylum tricornutum* for the enhanced accumulation of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids. *Metabolic Engineering*, 22, 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2013.12.003>
- Han, F., & Wang, ZY. (2013) Cloning and Activity Analysis of Promoter of RanGTPase Gene from Shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *J World Aquacult Soc*, 44, 860-866. doi:10.1111/jwas.12078
- HASEGAWA S, HIRASHIMA N, NAKANISHI M. Microtubule involvement in the intracellular dynamics for gene transfection mediated by cationic liposome. *Gene Ther* 2001; 8: 1669–1673.
- Hawkins, R. L., & Nakamura, M. (1999). Expression of human growth hormone by the eukaryotic alga, *Chlorella*. *Current Microbiology*, 38(6), 335–341. <https://doi.org/10.1007/PL00006813>
- Hew, C.L., Fletcher, G.L., Davies, P.L. (1995). Transgenic salmon: tailoring the genome for food production. *J Fish Biol*, 46(suppl A), 1–19.
- Hiruta, C., Ogino, Y., Sakuma, T., Toyota, K., Miyagawa, S., Yamamoto, T., & Iguchi, T. (2014). Targeted gene disruption by use of transcription activator-like effector nuclease (TALEN) in the water flea *Daphnia pulex*. *BMC biotechnology*, 14, 95. <https://doi.org/10.1186/s12896-014-0095-7>
- Homma, N., Harada, Y., Uchikawa, T., Kamei, Y., & Fukamachi, S. (2017). Protanopia (red color-blindness) in medaka: A simple system for producing color-blind fish and testing their spectral sensitivity. *BMC Genetics*, 18(1), 1–11. doi: 10.1186/s12863-017-0477-7
- Hosoi, S., Sakuma, T., Sakamoto, N., & Yamamoto, T. (2014). Targeted mutagenesis in sea urchin embryos using TALENs. *Development, growth & differentiation*, 56(1), 92–97. <https://doi.org/10.1111/dgd.12099>
- Hostetler, H.A., Collodi, P.R., Devlin, R.H., Muir, W.M. (2003). Ecological risks and benefits of fish transgenic for the phytase gene. *Transgenic Animal Research Conference IV*, Tahoe City, CA, August 10–14.
- Hough-Evans, B.R, Britten, R.J., & Davidson, E.H. (1988). Mosaic incorporation and regulated expression of an exogenous gene in the sea urchin embryo. *Developmental Biology*, 129(1), 198-208. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(88\)90174-1](https://doi.org/10.1016/0012-1606(88)90174-1).

- Hu, W., Wang, Y., Zhu, Z. (2006). A perspective on fish gonad manipulation for biotechnical applications. *Chinese Science Bulletin*, 51(1), 1–7.
- Hu, Z., Ai, N., Chen, W., Wong, Q. W. L., & Ge, W. (2019). Loss of growth hormone gene (gh1) in zebrafish arrests folliculogenesis in females and delays spermatogenesis in males. *Endocrinology*, 160(3), 568–586. doi: 10.1210/en.2018-00878
- Huang, J., You, W., Xu, Z., Yan, Q., Shi, C., Tang, B., Luo, X., Li, G., & Ke, C. (2019). An effective microinjection method and TALEN-mediated genome editing in Pacific abalone. *Marine Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s10126-019-09901-1>.
- Huang, P., Zhu, Z., Lin, S., & Zhang, B. (2012). Reverse Genetic Approaches in Zebrafish. *Journal of Genetics and Genomics*, 39(9), 421–433. doi: 10.1016/j.jgg.2012.07.004
- Huang, X., Weber, J. C., Hinson, T. K., Mathieson, A. C., & Minocha, S. C. (1996). Transient expression of the GUS reporter gene in the protoplasts and partially digested cells of *Ulva lactuca* L. (Chlorophyta). *Botanica Marina*, 39(5), 467–474. <https://doi.org/10.1515/botm.1996.39.1-6.467>
- Jaenisch R. Germ line integration and Mendelian transmission of the exogenous Moloney leukemia virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976; 73:1260–4.
- Jao, L. E., Wente, S. R., & Chen, W. (2013). Efficient multiplex biallelic zebrafish genome editing using a CRISPR nuclease system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(34), 13904–13909. doi: 10.1073/pnas.1308335110
- Jarvis, E. E., & Brown, L. M. (1991). Transient expression of firefly luciferase in protoplasts of the green alga *Chlorella ellipsoidea*. *Current Genetics*, 19(4), 317–321. <https://doi.org/10.1007/BF00355062>
- Jensen, I., Albuquerque, A., Sommer, A.I., Robertsen, B. (2002). Effect of poly I:C on the expression of Mx proteins and resistance against infection by infectious salmon anaemia virus in Atlantic salmon. *Fish Shellfish Immunol*, 13(4), 311–26.
- Jiang, W., Brueggeman, A. J., Horken, K. M., Plucinak, T. M., & Weeks, D. P. (2014). Successful transient expression of Cas9 and single guide RNA genes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eukaryotic Cell*, 13(11), 1465–1469. <https://doi.org/10.1128/EC.00213-14>
- Juntti, S. A., Hilliard, A. T., Kent, K. R., Kumar, A., Nguyen, A., Jimenez, M. A., ... Fernald, R. D. (2016). A Neural Basis for Control of Cichlid Female Reproductive Behavior by Prostaglandin F2 α . *Current Biology*, 26(7), 943–949. doi: 10.1016/j.cub.2016.01.067
- Kabeya, N., Takeuchi, Y., Yazawa, R., Haga, Y., Satoh, S., & Yoshizaki, G. (2016). Transgenic modification of the n-3 HUFA biosynthetic pathway in nibe croaker larvae: Improved DPA (docosapentaenoic acid; 22:5n-3) production. *Aquaculture Nutrition*, 22(2), 472–478. doi: 10.1111/anu.12273
- Kang, N. K., Choi, G. G., Kim, E. K., Shin, S. E., Jeon, S., Park, M. S., ... Lee, B. (2015). Heterologous overexpression of sfCherry fluorescent protein in *Nannochloropsis salina*. *Biotechnology Reports*, 8, 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2015.08.004>

- Kang, N. K., Jeon, S., Kwon, S., Koh, H. G., Shin, S. E., Lee, B., ... Chang, Y. K. (2015). Effects of overexpression of a bHLH transcription factor on biomass and lipid production in *Nannochloropsis salina*. *Biotechnology for Biofuels*, 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0386-9>
- Kao, P. H., & Ng, I. S. (2017). CRISPRi mediated phosphoenolpyruvate carboxylase regulation to enhance the production of lipid in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Bioresource Technology*, 245, 1527–1537. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.111>
- Kapuscinski, A.R. (2005). Current scientific understanding of the environmental biosafety of transgenic fish and shellfish. *Rev Sci Tech*, 24(1), 309–22.
- Kathiresan, S., Chandrashekar, A., Ravishankar, G. A., & Sarada, R. (2009). Agrobacterium-mediated transformation in the green alga *haematococcus pluvialis* (chlorophyceae, volvocales). *Journal of Phycology*, 45(3), 642–649. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00688.x>
- Kathiresan, S., Chandrashekar, A., Ravishankar, G. A., & Sarada, R. (2015). Regulation of astaxanthin and its intermediates through cloning and genetic transformation of β -carotene ketolase in *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Biotechnology*, 196–197, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.01.006>
- Kato, Y., Matsuura, T., & Watanabe, H. (2012) Genomic Integration and Germline Transmission of Plasmid Injected into Crustacean *Daphnia magna* Eggs. *PLOS ONE*, 7(9), e45318. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045318>
- Kawata, Y., Yano, S., Kojima, H., & Toyomizu, M. (2004). Transformation of *Spirulina platensis* strain C1 (*Arthrospira* sp. PCC9438) with Tn5 transposase-transposon DNA-cation liposome complex. *Marine Biotechnology*, 6(4), 355–363. <https://doi.org/10.1007/s10126-003-0037-1>
- Kell, M. J., Riccio, R. E., Baumgartner, E. A., Compton, Z. J., Pecorin, P. J., Mitchell, T. A., ... LeClair, E. E. (2018). Targeted deletion of the zebrafish actin-bundling protein L-plastin (lcp1). *PLoS ONE*, 13(1), 1–23. doi: 10.1371/journal.pone.0190353
- Kera SA , Agerwala SM, Horne JH . (2010). The temporal resolution of in vivo electroporation in zebrafish: a method for time-resolved loss of function. *Zebrafish*, 7, 97 – 108.
- Kesavan, G., Hammer, J., Hans, S., & Brand, M. (2018). Targeted knock-in of CreER T2 in zebrafish using CRISPR/Cas9. *Cell and Tissue Research*, 372(1), 41–50. doi: 10.1007/s00441-018-2798-x
- Kilian, O., Benemann, C. S. E., Niyogi, K. K., & Vick, B. (2011). High-efficiency homologous recombination in the oil-producing alga *Nannochloropsis* sp. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(52), 21265–21269. <https://doi.org/10.1073/pnas.1105861108>
- Kim, C.H., Kosuke, Z., Nam, Y.K., Kim, S.K., & Kim, K.H. (2007). Protection of shrimp (*Penaeus chinensis*) against white spot syndrome virus (WSSV) challenge by double-stranded RNA. *Fish & Shellfish Immunology*, 23(1), 242-246. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.10.012>

- Kim, D. H., Kim, Y. T., Cho, J. J., Bae, J. H., Hur, S. B., Hwang, I., & Choi, T. J. (2002). Stable integration and functional expression of flounder growth hormone gene in transformed microalga, *Chlorella ellipsoidea*. *Marine Biotechnology*, 4(1), 63–73. <https://doi.org/10.1007/s1012601-0070-x>
- Kimura, Y., Hisano, Y., Kawahara, A., & Higashijima, S. I. (2014). Efficient generation of knock-in transgenic zebrafish carrying reporter/driver genes by CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. *Scientific Reports*, 4, 1–7. doi: 10.1038/srep06545
- Kindle, K. L. (1990). High-frequency nuclear transformation of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(3), 1228–1232. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.3.1228>
- Kindle, K. L., Schenell, R. A., Fernández, E., & Lefebvre, P. A. (1989). Stable Nuclear Transformation of *Chlamydomonas* Using the *Chlamydomonas* Gene for Nitrate Reductase. *Journal of Cell Biology*, 2589–2601.
- Kinoshita, M. (2004). Transgenic medaka with brilliant fluorescence in skeletal muscle under normal light. *Fisheries Science*, 70(4), 645–649. doi: 10.1111/j.1444-2906.2004.00852.x
- Klein TM, Wolf ED, Wu R, Sanford JC (1987) High-velocity microprojectiles for delivering nucleic-acids into living cells. *Nature* 327:70–73
- Kobayashi, S. ichiro, Alimuddin, Morita, T., Miwa, M., Lu, J., Endo, M., ... Yoshizaki, G. (2007). Transgenic Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) over-expressing growth hormone show reduced ammonia excretion. *Aquaculture*, 270(1–4), 427–435. doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.05.016
- Kosma VM., Lenti viral integrase fusions: Genomic interactions, site selection and cellular delivery of heterologous proteins, University of Eastern Finland 2013.
- Kovar, J. L., Zhang, J., Funke, R. P., & Weeks, D. P. (2002). Molecular analysis of the acetolactate synthase gene of *Chlamydomonas reinhardtii* and development of a genetically engineered gene as a dominant selectable marker for genetic transformation. *Plant Journal*, 29(1), 109–117. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2002.01193.x>
- Krasnov, A., Agren, J.J., Pitkanen, T.I., Molsa, H. (1999). Transfer of growth hormone (GH) transgenes into Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) II. Nutrient partitioning in rapidly growing fish. *Genet Anal*, 15(3–5), 99–105.
- Krassen H, Pliquet U, Neumann E: Nonlinear current–voltage relationship of the plasma membrane of single CHO cells. *Bioelectrochemistry* 2007, 70:71-77
- Kumagai, H., Nakanishi, T., Matsuura, T., Kato, Y., & Watanabe, H. (2017). CRISPR/Cas-mediated knock-in via non-homologous end-joining in the crustacean *Daphnia magna*. *PLoS One*, 12(10), e0186112. doi:10.1371/journal.pone.0186112
- Kumar, S. V., Misquitta, R. W., Reddy, V. S., Rao, B. J., & Rajam, M. V. (2004). Genetic transformation of the green alga - *Chlamydomonas reinhardtii* by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Science*, 166(3), 731–738. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.11.012>

- Kurita, K., Burgess, S. M., & Sakai, N. (2004). Transgenic zebrafish produced by retroviral infection of in vitro-cultured sperm. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(5), 1263–1267. doi: 10.1073/pnas.0304265101
- Kuroyanagi, M., Katayama, T., Imai, T., Yamamoto, Y., Chisada, S. ichi, Yoshiura, Y., ... Okamoto, H. (2013). New approach for fish breeding by chemical mutagenesis: Establishment of TILLING method in fugu (*Takifugu rubripes*) with ENU mutagenesis. *BMC Genomics*, 14(1), 1–14. doi: 10.1186/1471-2164-14-786
- Kuznetsov, A. V., Pirkova, A. V., Dvoryanchikov, G. A., Panfertsev, E. A., Gavryushkin, A. V., Kuznetsova, I. V., & Erokhin, V. E. (2001). Study on the transfer of foreign genes into the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lam. eggs by spermatozoa. *Russian Journal of Developmental Biology* 32(4), 254–262.
- Lacroix B, Citovsky V. (2020). Biolistic Approach for Transient Gene Expression Studies in Plants. *Methods Mol Biol*. 2124: 125–139. doi: 10.1007/978-1-0716-0356-7_6.
- LAKKARAJU A, RAHMAN Y, DUBINSKY J M. Low-density lipoprotein receptor-related protein mediates the endocytosis of anionic liposomes in neurons. *J Biol Chem* 2002; 277: 15085 – 15092.
- Lapidot, M., Raveh, D., Sivan, A., Arad, S., & Shapira, M. (2002). Stable chloroplast transformation of the unicellular red alga *Porphyridium* species. *Plant Physiology*, 129(1), 7–12. <https://doi.org/10.1104/pp.011023>
- Lee O, Green JM, Tyler CR. (2015). Transgenic fish systems and their application in ecotoxicology. *Critical Reviews in Toxicology*, 45:2, 124-141, DOI: 10.3109/10408444.2014.965805.
- Li, M., Feng, R., Ma, H., Dong, R., Liu, Z., Jiang, W., ... Wang, D. (2016). Retinoic acid triggers meiosis initiation via *stra8*-dependent pathway in Southern catfish, *Silurus meridionalis*. *General and Comparative Endocrinology*, 232, 191–198. doi: 10.1016/j.ygcen.2016.01.003
- Li, M., Liu, X., Dai, S., Xiao, H., & Wang, D. (2019). High efficiency targeting of non-coding sequences using CRISPR/Cas9 system in *Tilapia*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 9(1), 287–295. doi: 10.1534/g3.118.200883
- Li, M., Yang, H., Zhao, J., Fang, L., Shi, H., Li, M., ... Wang, D. (2014). Efficient and heritable gene targeting in *tilapia* by CRISPR/Cas9. *Genetics*, 197(2), 591–599. doi: 10.1534/genetics.114.163667
- Li, SS., & Tsai, HJ. (2000). Transfer of foreign gene to giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) by spermatophore-microinjection. *Mol Reprod Dev.*, 56(2), 149-154. doi:10.1002/(SICI)1098-2795(200006)56:2<149::AID-MRD5>3.0.CO;2-U
- Lin, C. Y., & Su, Y. H. (2016). Genome editing in sea urchin embryos by using a CRISPR/Cas9 system. *Developmental biology*, 409(2), 420–428. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2015.11.018>

- Lin, C.-Y., & Su, Y.-H. (2016). Genome editing in sea urchin embryos by using a CRISPR/Cas9 system. *Developmental Biology* 409, 420–428.
- Liu, J., Sun, Z., Gerken, H., Huang, J., Jiang, Y., & Chen, F. (2014). Genetic engineering of the green alga *Chlorella zofingiensis*: A modified norflurazon-resistant phytoene desaturase gene as a dominant selectable marker. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(11), 5069–5079. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5593-y>
- Liu, S., & Leach, S. D. (2011). Zebrafish Models for Cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 6(1), 71–93. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130330
- Lois C, Hong EJ, Pease S, Brown EJ, Baltimore D. Germline transmission and tissue-specific expression of transgenes delivered by lentiviral vectors. *Science*. 2002;295:868–72.
- Lu, H., Cui, Y., Jiang, L., & Ge, W. (2017). Functional analysis of nuclear estrogen receptors in zebrafish reproduction by genome editing approach. *Endocrinology*, 158(7), 2292–2308. doi: 10.1210/en.2017-00215
- Lu, J.K., Chen, T.T., Allen, S.K., Matsubara, T., Burns, J.C. (1996). Production of transgenic dwarf surfclams, *Mulinia lateralis*, with pantropic retroviral vectors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93(8), 3482–6.
- Lu, J.K., Fu, B.H., Wu, J.L., Chen, T.T. (2002). Production of transgenic silver sea bream (*Sparus sarba*) by different gene transfer methods. *Mar Biotechnol*, 4(3), 328–37.
- Lu, J.-K., Chen, T. T., Allen, S. K., Matsubara, T., & Burns, J. C. (1996). Production of transgenic dwarf surfclams, *Mulinia lateralis*, with pantropic retroviral vectors. *Proceedings National Academy of Science USA* 93, 482-3486.
- Lu, Y. & Sun, P.S. (2005). Viral resistance in shrimp that express an antisense Taura syndrome virus coat protein gene. *Antiviral Res*, 67(3), 141–6.
- Ma, Y. H., Wang, X., Niu, Y. F., Yang, Z. K., Zhang, M. H., Wang, Z. M., ... Li, H. Y. (2014). Antisense knockdown of pyruvate dehydrogenase kinase promotes the neutral lipid accumulation in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Microbial Cell Factories*, 13(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12934-014-0100-9>
- Maclean, N. & Laight, R.J. (2000). Transgenic fish: an evaluation of benefits and risks. *Fish and Fisheries*, 1,146–72.
- Mancilla-Sánchez, E., & Portillo-López, A. (2017). Evidence of green fluorescent protein and growth hormone expression in red abalone (*Haliotis rufescens*) larvae. *Open Agriculture* 2, 230–235. DOI 10.1515/opag-2017-0024.
- Mao, W., Wang, Y., Wang, W., Wu, B., Feng, J., Zhu, Z. (2004). Enhanced resistance to *Aeromonas hydrophila* infection and enhanced phagocytic activities in human lactoferrin-transgenic grass carp. *Aquaculture*, 242, 93–103.

- Martin, A., Serano, J.M., Jarvis, E., Bruce, H.S., Wang, J., Ray, S., ... Patel, N.H. (2016). CRISPR/Cas9 Mutagenesis Reveals Versatile Roles of Hox Genes in Crustacean Limb Specification and Evolution. *Curr Biol*, 26(1), 14-26. doi:10.1016/j.cub.2015.11.021
- Martínez, R., Estrada, M.P., Berlanga, J., Guillen, I., Hernandez, O., Cabrera, E., ... de la Fuente, J. (1996). Growth enhancement in transgenic tilapia by ectopic expression of tilapia growth hormone. *Mol Mar Biol Biotechnol*, 5(1), 62–70.
- Martínez, R., Juncal, J., Zaldivar, C., Arenal, A., Guillen, I., Morera, V., ... Estrada, M.P. (2000). Growth efficiency in transgenic tilapia (*Oreochromis* sp.) carrying a single copy of and homologous cDNA growth hormone. *Biochem Biophys Res Commun*, 267(1), 466–72.
- Matsui, H., Taniguchi, Y., Inoue, H., Kobayashi, Y., Sakaki, Y., Toyoda, A., ... Takahashi, R. (2010). Loss of PINK1 in medaka fish (*Oryzias latipes*) causes late-onset decrease in spontaneous movement. *Neuroscience Research*, 66(2), 151–161. doi: 10.1016/j.neures.2009.10.010
- Mayfield SP, Kindle KL (1990) Stable nuclear transformation of *Chlamydomonas reinhardtii* by using a *C. reinhardtii* gene as the selectable marker. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:2087–2091
- Mayfield, S. P., & Kindle, K. L. (1990). Stable nuclear transformation of *Chlamydomonas reinhardtii* by using a *C. reinhardtii* gene as the selectable marker. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(6), 2087–2091. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.6.2087>
- McMahon, A.P., Flytzanis, C.N., Hough-Evans, B.R., Katula, K.S., Britten, R.J., & Davidson, E.H. (1985). Introduction of cloned DNA into sea urchin egg cytoplasm: replication and persistence during embryogenesis. *Developmental biology*, 108 (2), 420-30.
- Mellott, D. O., Thisdelle, J., & Burke, R. D. (2017). Notch signaling patterns neurogenic ectoderm and regulates the asymmetric division of neural progenitors in sea urchin embryos. *Development*, 144(19), 3602–3611. <https://doi.org/10.1242/dev.151720>
- Moens, C. B., Donn, T. M., Wolf-Saxon, E. R., & Ma, T. P. (2008). Reverse genetics in zebrafish by TILLING. *Briefings in Functional Genomics and Proteomics*, 7(6), 454–459. doi: 10.1093/bfgp/eln046
- Nagao, Y., Takada, H., Miyadai, M., Adachi, T., Seki, R., Kamei, Y., ... Hashimoto, H. (2018). Distinct interactions of Sox5 and Sox10 in fate specification of pigment cells in medaka and zebrafish. *PLoS Genetics*, 14(4), e1007260. doi: 10.1371/journal.pgen.1007260
- Naitou, A., Kato, Y., Nakanishi, T., Matsuura, T., & Watanabe, H. (2015). Heterodimeric TALENs induce targeted heritable mutations in the crustacean *Daphnia magna*. *Biology open*, 4 (3), 364-369
- Nakanishi K, Uenoyama M, Tomita N, Morishita R, Kaneda Y, Ogihara T, et al. Gene transfer of human hepatocyte growth factor into rat skin wounds mediated by liposomes coated with the sendai virus (Hemagglutinating Virus of Japan). *Am J Pathol*. 2002;161:1761-1772.

- Nakanishi, T., Kato, Y., Matsuura, T., & Watanabe, H. (2014). CRISPR/Cas-mediated targeted mutagenesis in *Daphnia magna*. *PLoS One.*, 9(5), e98363. doi:10.1371/journal.pone.0098363
- Nakanishi, T., Kato, Y., Matsuura, T., & Watanabe, H. (2015). TALEN-mediated homologous recombination in *Daphnia magna*. *Sci Rep*, 5, 18312. <https://doi.org/10.1038/srep18312>
- Nakanishi, T., Kato, Y., Matsuura, T., & Watanabe, H. (2016). TALEN-mediated knock-in via non-homologous end joining in the crustacean *Daphnia magna*. *Sci Rep*, 6, 36252. <https://doi.org/10.1038/srep36252>
- Nam, Y. K., Cho, H. J., Cho, Y. S., Noh, J. K., Kim, C. G., & Kim, D. S. (2001). Accelerated growth, gigantism and likely sterility in autotransgenic triploid mud loach *Misgurnus mizolepis*. *Transgenic Research*, 32(4), 353–363. doi: 10.1111/j.1749-7345.2001.tb00461.x
- Nam, Y.K., Cho, Y.S, Cho, J.C., Kim, D.S. (2002). Accelerated growth performance and stable germline transmission in androgenetically derived homozygous transgenic mud loach, *Misgurnus mizolepis*. *Aquaculture*, 209, 257–70.
- Nelson, J. A., Savereide, P. B., & Lefebvre, P. A. (1994). The CRY1 gene in *Chlamydomonas reinhardtii*: structure and use as a dominant selectable marker for nuclear transformation. *Molecular and Cellular Biology*, 14(6), 4011–4019. <https://doi.org/10.1128/mcb.14.6.4011>
- Neumann E, Schaefer-Ridder M, Wang Y, Hofschneider PH: Gene transfer into mouse lymphoma cells by electroporation in high electric fields. *EMBO J* 1982, 1:841-845
- Niu, Y. F., Zhang, M. H., Xie, W. H., Li, J. N., Gao, Y. F., Yang, W. D., ... Li, H. Y. (2011). A new inducible expression system in a transformed green alga, *Chlorella vulgaris*. *Genetics and Molecular Research*, 10(4), 3427–3434. <https://doi.org/10.4238/2011.October.21.1>
- Nymark, M., Sharma, A. K., Sparstad, T., Bones, A. M., & Winge, P. (2016). A CRISPR/Cas9 system adapted for gene editing in marine algae. *Scientific Reports*, 6(February), 6–11. <https://doi.org/10.1038/srep24951>
- Ochiai, H., Fujita, K., Suzuki, K.-i., Nishikawa, M., Shibata, T., Sakamoto, N., & Yamamoto, T. (2010). Targeted mutagenesis in the sea urchin embryo using zinc-finger nucleases. *Genes to Cells*, 15, 875-885. doi:10.1111/j.1365-2443.2010.01425.x
- Ochiai, H., Sakamoto, N., Fujita, K., Nishikawa, M., Suzuki, K., Matsuura, S., Miyamoto, T., Sakuma, T., Shibata, T., & Yamamoto, T. (2012). Zinc-finger nuclease-mediated targeted insertion of reporter genes for quantitative imaging of gene expression in sea urchin embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109 (27) 10915-10920; DOI: 10.1073/pnas.1202768109
- Ochiai, H., Sakamoto, N., Suzuki, K., Akasaka, K., & Yamamoto, T. (2008). The Ars insulator facilitates I-SceI meganuclease-mediated transgenesis in the sea urchin embryo. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 237(9), 2475–2482. <https://doi.org/10.1002/dvdy.21690>

- Ojanen, M. J. T., Uusi-Mäkelä, M. I. E., Harjula, S. K. E., Saralahti, A. K., Oksanen, K. E., Kähkönen, N., ... Rämetsä, M. (2019). Intelectin 3 is dispensable for resistance against a mycobacterial infection in zebrafish (*Danio rerio*). *Scientific Reports*, 9(1), 1–17. doi: 10.1038/s41598-018-37678-1
- Ongvarrasopone, C., Chanasakulniyom, M., Sritunyalucksana, K., & Panyim, S. (2008). Suppression of PmRab7 by dsRNA Inhibits WSSV or YHV Infection in Shrimp. *Mar Biotechnol*, 10, 374–381. <https://doi.org/10.1007/s10126-007-9073-6>
- Ongvarrasopone, C., Chomchay, E., & Panyim, S. (2010). Antiviral effect of PmRab7 knock-down on inhibition of Laem-Singh virus replication in black tiger shrimp. *Antiviral Research*, 88 (1), 116–118. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2010.06.013>
- Ongvarrasopone, C., Saejia, P., Chanasakulniyom, M., & Panyim, S. (2011). Inhibition of Taura syndrome virus replication in *Litopenaeus vannamei* through silencing the LvRab7 gene using double-stranded RNA. *Archives of virology*, 156(7), 1117–1123. <https://doi.org/10.1007/s00705-011-0952-9>
- Oulhen, N., & Wessel, G. M. (2016). Albinism as a visual, in vivo guide for CRISPR/Cas9 functionality in the sea urchin embryo. *Molecular reproduction and development*, 83(12), 1046–1047. <https://doi.org/10.1002/mrd.22757>
- Palmiter RD, Brinster RL, Hammer RE, Trumbauer ME, Rosenfeld MG, Birnberg NC , Evans RM . (1982) . Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature*, 300, 611– 5.
- Pan, L., Shah, A. N., Phelps, I. G., Doherty, D., Johnson, E. A., & Moens, C. B. (2015). Rapid identification and recovery of ENU-induced mutations with next-generation sequencing and Paired-End Low-Error analysis. *BMC Genomics*, 16(1), 1–13. doi: 10.1186/s12864-015-1263-4
- Pandian, T.J., Venugopal, T. (2005). Contribution to transgenesis in Indian major carp *Labeo rohita*. In: Pandian TJ, Strussmann CA, Marian MP, editors. Fish genetics and aquaculture biotechnology. Enfield, N.H.: *Science Publishers Inc.* p 1–20.
- Perry, K. J., & Henry, J. Q. (2015). CRISPR/Cas9-Mediated Genome Modification in the Mollusc, *Crepidula fornicata*. *Genesis* 53, 237–244.
- Pitkänen, T. I., Krasnov, A., Reinisalo, M., & Mölsä, H. (1999). Transfer and expression of glucose transporter and hexokinase genes in salmonid fish. *Aquaculture*, 173(1–4), 319–332. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00455-4
- Pitkanen, T.I., Krasnov, A., Reinisalo, M., Molsa, H. (1999^a). Transfer and expression of glucose transporter and hexokinase genes in salmonid fish. *Aquaculture*, 173(1), 319–32.
- Pitkanen, T.I., Krasnov, A., Teerijoki, H., Molsa, H. (1999^b). Transfer of growth hormone (GH) transgenes into Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) I. Growth response to various GH constructs. *Genet Anal*, 15(3–5), 91–8.

- Pohajdak, B., Mansour, M., Hrytsenko, O., Michael Conlon, J., Clayton Dymond, L., & Wright, J. R. (2004). Production of transgenic tilapia with Brockmann bodies secreting [des^{Thr}B30] human insulin. *Transgenic Research*, 13(4), 313–323. doi: 10.1023/B:TRAG.0000040036.11109.ee
- Pongsoppee, A., Rossukon, K., Chaweewan, C., Ukrit, K., Orathai, N., & Sakol, P. (2009). Inhibition of white spot syndrome virus replication in *Penaeus monodon* by combined silencing of viral rr2 and shrimp PmRab7. *Virus Research*, 145(1), 127–133, ISSN 0168-1702, <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.06.018>.
- Preston, N.P, Baule, V.J., Leopold, R., Henderling, J., Atkinson, P.W., & Whyard, S. (2000). Delivery of DNA to early embryos of the Kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 181, 225–234, ISSN 0044-8486, [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00236-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00236-7).
- Puttonen, H. A. J., Sundvik, M., Semenova, S., Shirai, Y., Chen, Y. C., & Panula, P. (2018). Knockout of histamine receptor H3 alters adaptation to sudden darkness and monoamine levels in the zebrafish. *Acta Physiologica*, 222(3). doi: 10.1111/apha.12981
- Qin, Z., Li, Y., Su, B., Cheng, Q., Ye, Z., Perera, D. A., ... Dunham, R. A. (2016). Editing of the Luteinizing Hormone Gene to Sterilize Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*, Using a Modified Zinc Finger Nuclease Technology with Electroporation. *Marine Biotechnology*, 18(2), 255–263. doi: 10.1007/s10126-016-9687-7
- Radakovits, R., Jinkerson, R. E., Fuerstenberg, S. I., Tae, H., Settlage, R. E., Boore, J. L., & Posewitz, M. C. (2012). Draft genome sequence and genetic transformation of the oleaginous alga *Nannochloropsis gaditana*. *Nature Communications*, 3. <https://doi.org/10.1038/ncomms1688>
- Rahman, A., Maclean, N. (1998). Production of lines of growth enhanced transgenic tilapia (*Oreochromis niloticus*) expressing a novel piscine growth hormone gene. In: Le Gal Y, Halvorson HO, editors. New developments in marine biotechnology. *New York: Plenum Press*. p 19–28.
- Rahman, M. A., & Maclean, N. (1992). Production of transgenic tilapia (*Oreochromis niloticus*) by one-cell-stage microinjection. *Aquaculture*, 105(3–4), 219–232. doi: 10.1016/0044-8486(92)90088-3
- Rahman, M. A., Ronyai, A., Engidaw, B. Z., Jauncey, K., Hwang, G. L., Smith, A., ... Maclean, N. (2001). Growth and nutritional trials on transgenic Nile tilapia containing an exogenous fish growth hormone gene. *Journal of Fish Biology*, 59(1), 62–78. doi: 10.1006/jfbi.2001.1622
- Rahman, M.A., Ronyai, A., Engidaw, B.Z., Jauncey, K., Hwang, G.L., Smith, A., ... Maclean, N. (2001). Growth and nutritional trials on transgenic Nile tilapia containing an exogenous fish growth hormone gene. *J Fish Biol*, 59, 62–78.
- Randolph-Anderson, B. L., Sato, R., Johnson, A. M., Harris, E. H., Hauser, C. R., Oeda, K., ... Boynton, J. E. (1998). Isolation and characterization of a mutant protoporphyrinogen oxidase gene from *Chlamydomonas reinhardtii* conferring resistance to porphyric herbicides. *Plant Molecular Biology*, 38(5), 839–859. <https://doi.org/10.1023/A:1006085026294>
- Rao NM, Rambabu KM, Rao SH. (2008). Electroporation of adult zebrafish. *Methods Mol Biol*, 423 , 289 – 98 .

- Rasmussen, R.S., & Morrissey, M.T. (2007). Biotechnology in Aquaculture: Transgenics and Polyploidy. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6, 2-16.
- Raz, E., Van Luenen, H. G. A. M., Schaerringer, B., Plasterkt, R. H. A., & Driever, W. (1998). Transposition of the nematode *Caenorhabditis elegans* Tc3 element in the zebrafish *Danio rerio*. *Current Biology*, 8(2), 82–88. doi: 10.1016/S0960-9822(98)70038-7
- Regneri, J., Klotz, B., Wilde, B., Kottler, V. A., Hausmann, M., Kneitz, S., ... Schartl, M. (2018). Analysis of the putative tumor suppressor gene *cdkn2ab* in pigment cells and melanoma of Xiphophorus and medaka. *Pigment Cell and Melanoma Research*. doi: 10.1111/pcmr.12729
- Rémy, S., Tesson, L., Ménoret, S., Usal, C., Scharenberg, A. M., & Anegon, I. (2010). Zinc-finger nucleases: A powerful tool for genetic engineering of animals. *Transgenic Research*, 19(3), 363–371. doi: 10.1007/s11248-009-9323-7
- Rijiravanich, A., Browdy, C.L., & Withyachumnarnkul, B. (2008). Knocking down caspase-3 by RNAi reduces mortality in Pacific white shrimp *Penaeus* (*Litopenaeus*) *vannamei* challenged with a low dose of white-spot syndrome virus. *Fish & Shellfish Immunology*, 24 (3), 308-313. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2007.11.017>.
- Rokkones, E., Aleström, P., Skjervold, H., & Gautvik, K. M. (1989). Microinjection and expression of a mouse metallothionein human growth hormone fusion gene in fertilized salmonid eggs. *Journal of Comparative Physiology B*, 158(6), 751–758. doi: 10.1007/BF00693013
- Sarmasik, A., Jang, I.K., Chun, C.Z., Lu, J.K., Chen, T.T. (2001). Transgenic live-bearing fish and crustaceans produced by transforming immature gonads with replication-defective pantropic retroviral vectors. *Mar Biotechnol*, 3(5), 470–7.
- Sarmasik, A., Warr, G., Chen, T.T. (2002). Production of transgenic medaka with increased resistance to bacterial pathogens. *Mar Biotechnol*, 4(3), 310–22.
- Sasaki, H., Yoshida, K., Hozumi, A., & Sasakura, Y. (2014). CRISPR/Cas9-mediated gene knockout in the ascidian *Ciona intestinalis*. *Development Growth Differentiation* 56, 499–510.
- Saxena, A., & Jha, N.P. (2013). TRANSGENIC FISH: TECHNIQUES, POTENTIAL AND PROSPECTS. *Trends in Fisheries Research*, 2(2), 2319 – 4758.
- Schiedlmeier, B., Schmitt, R., Müller, W., Kirk, M. M., Gruber, H., Mages, W., & Kirk, D. L. (1994). Nuclear transformation of *Volvox carteri*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(11), 5080–5084. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.11.5080>
- Segade, F., Cota, C., Famiglietti, A., Cha A., & Davidson, B. (2016). Fibronectin contributes to notochord intercalation in the invertebrate chordate, *Ciona intestinalis*. *EvoDevo* 7(21), 1-16. DOI 10.1186/s13227-016-0056-4.
- Sertori, R., Trengove, M., Basheer, F., Ward, A. C., & Liongue, C. (2016). Genome editing in zebrafish: A practical overview. *Briefings in Functional Genomics*, 15(4), 322–330. doi: 10.1093/bfpg/elv051

- Shevidi, S., Uchida, A., Schudrowitz, N., Wessel, G. M., & Yajima, M. (2017). Single nucleotide editing without DNA cleavage using CRISPR/Cas9-deaminase in the sea urchin embryo. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 246(12), 1036–1046. <https://doi.org/10.1002/dvdy.24586>
- Shin, S. E., Lim, J. M., Koh, H. G., Kim, E. K., Kang, N. K., Jeon, S., ... Jeong, B. R. (2016). CRISPR/Cas9-induced knockout and knock-in mutations in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Scientific Reports*, 6(April), 1–15. <https://doi.org/10.1038/srep27810>
- Sizova, I., Fuhrmann, M., & Hegemann, P. (2001). A *Streptomyces rimosus* aphVIII gene coding for a new type phosphotransferase provides stable antibiotic resistance to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Gene*, 277(1–2), 221–229. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(01\)00616-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(01)00616-3)
- Skromne, I., & Prince, V. E. (2008). Current perspectives in zebrafish reverse genetics: Moving forward. *Developmental Dynamics*, 237(4), 861–882. doi: 10.1002/dvdy.21484
- Smith FD, Harpending PR, Sanford JC (1992) Biolistic transformation of prokaryotes: factors that affect biolistic transformation of very small cells. *J Gen Microbiol* 138:239–248
- Stahl, B. A., Peuß, R., McDole, B., Kenzior, A., Jaggard, J. B., Gaudenz, K., ... Rohner, N. (2019). Stable transgenesis in *Astyanax mexicanus* using the Tol2 transposase system. *Developmental Dynamics*, (February), 679–687. doi: 10.1002/dvdy.32
- Steinbrenner, J., & Sandmann, G. (2006). Transformation of the green alga *Haematococcus pluvialis* with a phytoene desaturase for accelerated astaxanthin biosynthesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12), 7477–7484. <https://doi.org/10.1128/AEM.01461-06>
- Stevens, D. R., Rochaix, J. D., & Purton, S. (1996). The bacterial phleomycin resistance gene ble as a dominant selectable marker in *Chlamydomonas*. *Molecular and General Genetics*, 251(1), 23–30. <https://doi.org/10.1007/s004380050135>
- Stewart CL, Schuetze S, Vanek M, Wagner EF. Expression of retroviral vectors in transgenic mice obtained by embryo infection. *EMBO J*. 1987; 6:383–8.
- Stolfi, A., Gandhi, S., Salek F., & Christiaen, L. (2014). Tissue-specific genome editing in *Ciona* embryos by CRISPR/Cas9. *Development* 141, 4115–4120. doi:10.1242/dev.114488.
- Straubinger, R.M. & Papahadjopoulos, D. 1983. Liposomes as carriers for intracellular delivery of nucleic acids. *Methods in Enzymology*, 101:512–527.
- Sun, G., Zhang, X., Sui, Z., & Mao, Y. (2008). Inhibition of pds gene expression via the RNA interference approach in *Dunaliella salina* (Chlorophyta). *Marine Biotechnology*, 10(3), 219–226. <https://doi.org/10.1007/s10126-007-9056-7>
- Sun, J., Liu, W., Li, L., Chen, J., Wu, M., Zhang, Y., ... Liao, W. (2013). Suppression of Pu.1 function results in expanded myelopoiesis in zebrafish. *Leukemia*, 27(9), 1913–1917. doi: 10.1038/leu.2013.67

- Sun, L., Nguyen, A. T., Spitsbergen, J. M., & Gong, Z. (2015). Myc-induced liver tumors in transgenic zebrafish can regress in tp53 null mutation. *PLoS ONE*, 10(1), 1–17. doi: 10.1371/journal.pone.0117249
- Sun, Y., Gao, X., Li, Q., Zhang, Q., & Xu, Z. (2006). Functional complementation of a nitrate reductase defective mutant of a green alga *Dunaliella viridis* by introducing the nitrate reductase gene. *Gene*, 377(1–2), 140–149. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2006.03.018>
- Sun, Y., Yang, Z., Gao, X., Li, Q., Zhang, Q., & Xu, Z. (2005). Expression of foreign genes in *Dunaliella* by electroporation. *Molecular Biotechnology*, 30(3), 185–192. <https://doi.org/10.1385/MB:30:3:185>
- Suster, M. L., Sumiyama, K., & Kawakami, K. (2009). Transposon-mediated BAC transgenesis in zebrafish and mice. *BMC Genomics*, 10, 477. doi: 10.1186/1471-2164-10-477
- Talebi, A. F., Tohidfar, M., Bagheri, A., Lyon, S. R., Salehi-Ashtiani, K., & Tabatabaei, M. (2014). Manipulation of carbon flux into fatty acid biosynthesis pathway in *Dunaliella salina* using *AccD* and *ME* genes to enhance lipid content and to improve produced biodiesel quality. *Biofuel Research Journal*, 1(3), 91–97. <https://doi.org/10.18331/BRJ2015.1.3.6>
- Taniguchi, Y., Takeda, S., Furutani-Seiki, M., Kamei, Y., Todo, T., Sasado, T., ... Cuppen, E. (2006). Generation of medaka gene knockout models by target-selected mutagenesis. *Genome Biology*, 7(12). doi: 10.1186/gb-2006-7-12-r116
- Ten Lohuis, M. R., & Miller, D. J. (1998). Genetic transformation of dinoflagellates (*Amphidinium* and *Symbiodinium*): Expression of GUS in microalgae using heterologous promoter constructs. *Plant Journal*, 13(3), 427–435. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1998.00040.x>
- Teng, C., Qin, S., Liu, J., Yu, D., Liang, C., & Tseng, C. (2002). Transient expression of *lacZ* in bombarded unicellular green alga *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Applied Phycology*, 14(6), 497–500. <https://doi.org/10.1023/A:1022314815045>
- Thiel, T., & Poo, H. (1989). Transformation of a filamentous cyanobacterium by electroporation. *Journal of Bacteriology*, 171(10), 5743–5746. <https://doi.org/10.1128/jb.171.10.5743-5746.1989>
- Thresher, R., Grewe, P., Patil, J. G., Whyard, S., Templeton, C. M., Chaimongol, A., Hardy, C. M., Hinds, L. A., Dunham, R. (2009). Development of repressible sterility to prevent the establishment of feral populations of exotic and genetically modified animals. *Aquaculture* 290, 104–109.
- Tian, J., Hu, J., Chen, M., Yin, H., Miao, P., Bai, P., & Yin, J. (2017). The use of *mrp1*-deficient (*Danio rerio*) zebrafish embryos to investigate the role of *Mrp1* in the toxicity of cadmium chloride and benzo[a]pyrene. *Aquatic Toxicology*, 186, 123–133. doi: 10.1016/j.aquatox.2017.03.004
- Tonoyama, Y., Shinya, M., Toyoda, A., Kitano, T., Oga, A., Nishimaki, T., ... Taniguchi, Y. (2018). Abnormal nuclear morphology is independent of longevity in a *zmpste24*-deficient fish model of Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS). *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 209(December 2017), 54–62. doi: 10.1016/j.cbpc.2018.03.006

- Törner, K., Nakanishi, T., Matsuura, T., Kato, Y., & Watanabe, H. (2018) Genomic integration and ligand-dependent activation of the human estrogen receptor α in the crustacean *Daphnia magna*. *PLOS ONE*, 13(6), e0198023. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198023>
- Trentacoste, E. M., Shrestha, R. P., Smith, S. R., Glé, C., Hartmann, A. C., Hildebrand, M., & Gerwick, W. H. (2013). Metabolic engineering of lipid catabolism increases microalgal lipid accumulation without compromising growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(49), 19748–19753. <https://doi.org/10.1073/pnas.1309299110>
- Tsai, H. J. (2000). Electroporated sperm mediation of a gene transfer system for finfish and shellfish. *Molecular Reproduction and Development* 56, 281-284
- Tsai, H.-J., Lai, C.-H., & Yang, H.-S. (1997). Sperm as a carrier to introduce an exogenous DNA fragment into the oocyte of Japanese abalone (*Haliotis diversicolor suportexta*). *Transgenic Research* 6, 85–95.
- Tseng, F. S., Tsai, H. J., Liao, I. C., & Song, Y. L. (2000). Introducing foreign DNA into tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by electroporation. *Theriogenology*, 54 (9), 1421–1432. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(00\)00464-7](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(00)00464-7)
- Varshney, G. K., Pei, W., Lafave, M. C., Idol, J., Xu, L., Gallardo, V., ... Burgess, S. M. (2015). High-throughput gene targeting and phenotyping in zebrafish using CRISPR/Cas9. *Genome Research*, 25(7), 1030–1042. doi: 10.1101/gr.186379.114
- Vieler, A., Wu, G., Tsai, C. H., Bullard, B., Cornish, A. J., Harvey, C., ... Benning, C. (2012). Genome, Functional Gene Annotation, and Nuclear Transformation of the Heterokont Oleaginous Alga *Nannochloropsis oceanica* CCMP1779. *PLoS Genetics*, 8(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003064>
- Wang, C., Chen, Y. L., Bian, W. P., Xie, S. L., Qi, G. Le, Liu, L., ... Pei, D. S. (2018). Deletion of *mstna* and *mstnb* impairs the immune system and affects growth performance in zebrafish. *Fish and Shellfish Immunology*, 72(July 2017), 572–580. doi: 10.1016/j.fsi.2017.11.040
- Wang, Q., Lu, Y., Xin, Y., Wei, L., Huang, S., & Xu, J. (2016). Genome editing of model oleaginous microalgae *Nannochloropsis* spp. by CRISPR/Cas9. *Plant Journal*, 88(6), 1071–1081. <https://doi.org/10.1111/tpj.13307>
- Wang, R., Zhang, P., Gong, Z., Hew, C.L. (1995). Expression of the antifreeze protein gene in transgenic goldfish (*Carassius auratus*) and its implication in cold adaptation. *Mol Mar Biol Biotech*, 4(1),20–6.
- Wang, X., Hu, J., Pan, J., Ma, Z., Bi, Zhang, Q., & Bao, Z. (2004). Polyethylenimine promotes sperm-mediated transgene and oligonucleotide delivery in abalone *Haliotis discus hannai*. *Journal of Shellfish Reseach*. www.paper.edu.cn 1-17.
- Wang, Y., Hu, W., Wu, G., Sun, Y., Chen, S., Zhang, F., ... Zhang, X. (2001). Genetic analysis of “all-fish” growth hormone gene transferred carp (*Cyprinus carpio* L.) and its F1 generation. *Chin Sci Bull*, 46(14), 1174–7.
- Wargelius, A., Leininger, S., Skaftnesmo, K. O., Kleppe, L., Andersson, E., Taranger, G. L., ... Edvardsen, R. B. (2016). Dnd knockout ablates germ cells and demonstrates germ cell

- independent sex differentiation in Atlantic salmon. *Scientific Reports*, 6(5817), 1–8. doi: 10.1038/srep21284
- Watakabe, I., Hashimoto, H., Kimura, Y., Yokoi, S., Naruse, K., & Higashijima, S. I. (2018). Highly efficient generation of knock-in transgenic medaka by CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. *Zoological Letters*, 4(1), 1–11. doi: 10.1186/s40851-017-0086-3
- Wessel, G.M., Kiyomoto, M., Shen, T., & Yajima, M. (2020). Genetic manipulation of the pigment pathway in a sea urchin reveals distinct lineage commitment prior to metamorphosis in the bilateral to radial body plan transition. *Sci Rep*, 10, 1973. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58584-5>
- Wienholds, E., van Eeden, F., Kusters, M., Mudde, J., Plasterk, R. H. A., & Cuppen, E. (2003). Efficient target-selected mutagenesis in zebrafish. *Genome Research*, 13(12), 2700–2707. doi: 10.1101/gr.1725103
- Wu, Y., Lü, L., Yang, L.S., Weng, S.P., Chan, S.M., & He, J.G. (2007). Inhibition of white spot syndrome virus in *Litopenaeus vannamei* shrimp by sequence-specific siRNA. *Aquaculture*, 271, 1–4, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.06.029>
- Xue, J., Niu, Y. F., Huang, T., Yang, W. D., Liu, J. S., & Li, H. Y. (2015). Genetic improvement of the microalga *Phaeodactylum tricornutum* for boosting neutral lipid accumulation. *Metabolic Engineering*, 27, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2014.10.002>
- Yang, B., Liu, J., Liu, B., Sun, P., Ma, X., Jiang, Y., ... Chen, F. (2015). Development of a stable genetic system for *Chlorella vulgaris*-A promising green alga for CO2 biomitigation. *Algal Research*, 12, 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.08.012>
- Yano, A., Nicol, B., Jouanno, E., & Guiguen, Y. (2014). Heritable Targeted Inactivation of the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Master Sex-Determining Gene Using Zinc-Finger Nucleases. *Marine Biotechnology*, 16(2), 243–250. doi: 10.1007/s10126-013-9546-8
- Yazawa, R., Hirono, I., Aoki, T. (2005^a). Characterization of promoter activities of four different Japanese flounder promoters in transgenic zebrafish. *Mar Biotechnol*, 7(6), 625–33.
- Yazawa, R., Watanabe, K., Koyama, T., Ruangapan, L., Tassanakajon, A., Hirono, I., & Aoki, T. (2005). Development of gene transfer technology for black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Journal of experimental zoology. Part A, Comparative experimental biology*, 303(12), 1104–1109. <https://doi.org/10.1002/jez.a.235>
- Yazawa, R., Watanabe, K., Koyama, T., Ruangapan, L., Tassanakajon, A., Hirono, I., Aoki, T. (2005^b). Development of gene transfer technology for black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *J Exp Zool A, Comp Exp Biol*, 303(12), 1104–9.
- Yu, H., Li, H., Li, Q., Xu, R., Yue, C. & Du, S. (2019). Targeted gene disruption in Pacific oyster based on CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes. *Marine Biotechnology* 21, 301–309 <https://doi.org/10.1007/s10126-019-09885-y>.

- Zaslavskaja, L. A., Casey Lippmeier, J., Kroth, P. G., Grossman, A. R., & Apt, K. E. (2000). Transformation of the diatom *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) with a variety of selectable marker and reporter genes. *Journal of Phycology*, 36(2), 379–386. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2000.99164.x>
- Zhang, F., Wang, Y., Hu, W., Cui, Z., Zhu, Z. (2000). Physiological and pathological analysis of the mice fed with “all-fish” gene transferred yellow river carp. *High Technol Lett*, 7,17– 9.
- Zhang, J., Hao, Q., Bai, L., Xu, J., Yin, W., Song, L., ... Hu, Z. (2014). Overexpression of the soybean transcription factor GmDof4 significantly enhances the lipid content of *Chlorella ellipsoidea*. *Biotechnology for Biofuels*, 7(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13068-014-0128-4>
- Zhang, P., Joyce, C., Gozalez-Villasenor, L.I., Lin, C.M., Dunham, R.A., Chen, T.T., Power, D.A. (1990). Gene transfer, expression, and inheritance of pRSV-rainbow trout-GHcDNA in common carp (Linnaeus). *Mol Reprod Dev*, 2,3–13.
- Zhang, P., Xu, Y., Liu, Z., Xiang, Y., Du, S., Hew, C.L. (1998). Gene transfer in red sea bream (*Pagrosomus major*). In: Le Gal Y, Halvorson HO, editors. *New developments in marine biotechnology*. New York: Plenum Press. p 15–8.
- Zhang, X., Guan, G., Chen, J., Naruse, K., & Hong, Y. (2014). Parameters and Efficiency of Direct Gene Disruption by Zinc Finger Nucleases in Medaka Embryos. *Marine Biotechnology*, 16(2), 125–134. doi: 10.1007/s10126-013-9556-6
- Zhong, J., Wang, Y., Zhu, Z. (2002). Introduction of the human lactoferrin gene into grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) to increase resistance against GCH virus. *Aquaculture*, 214, 93– 101.
- Zhong, Z., Niu, P., Wang, M., Huang, G., Xu, S., Sun, Y., ... Wang, H. (2016). Targeted disruption of sp7 and myostatin with CRISPR-Cas9 results in severe bone defects and more muscular cells in common carp. *Scientific Reports*, 6(January), 1–14. doi: 10.1038/srep22953
- Zhu, B., & Ge, W. (2018). Genome editing in fishes and their applications. *General and Comparative Endocrinology*, 257, 3–12. doi: 10.1016/j.ygcen.2017.09.011
- Zhu, Z., He, L., & Chen, S. (1985). Novel gene transfer into the fertilized eggs of gold fish (*Carassius auratus* L. 1758). *Journal of Applied Ichthyology*, 1(1), 31–34. doi: 10.1111/j.1439-0426.1985.tb00408.x
- Zhu, Z., Li, G., He, L., Chen, S. (1985). Novel gene transfer into the fertilized eggs of gold fish (*Carassius auratus* L. 1758). *J Appl Ichthyol*,1,31–4.
- Zhu, Z., Xu, K., Li, G., Xie, Y., He, L. (1986). Biological effects of human growth hormone gene microinjected into the fertilized eggs of loach *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor). *Kexue Tongbao*, 31(14), 988–90.

Objetivo Especifico 4.2 Describir los principales usos científicos y productivos de los Organismos Genéticamente Modificados, y de sus técnicas, con énfasis en la producción de alimentos a través de la acuicultura, control sanitario, control ambiental y control de plagas hidrobiológicas.

Para el cumplimiento al objetivo 4.2 el presente equipo describe los principales usos científicos y productivos de los OGM y de sus técnicas.

Se recopiló y analizó información disponible en: i) revistas (journals) de bibliotecas nacionales e internacionales; ii) tesis de pre y post-grado; iii) biblioteca y base de datos de proyectos disponibles en SERNAPESCA, Fondo de Investigación Pesquera (FIP) e IFOP iv) FONDEF v) FONDECYT vi) INNOVA y vii) material disponible en bases de datos nacionales e internacionales.

Palabras claves. Se utilizó diversas herramientas de búsqueda disponibles en internet, como por ejemplo ISI Web of Knowledge (<http://wokinfo.com/>), Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) (entre otros), considerando las siguientes palabras claves (español o inglés, según corresponda): OGM, GM, Organismos Genéticamente Modificados, Genéticamente Modificados, Usos OGM, transgénicos, animales transgénicos, peces transgénicos, acuicultura, edición génica.

A partir de la búsqueda de los principales usos científicos y productivos, de sus técnicas, en la producción de alimentos a través de la acuicultura, control sanitario, control ambiental y control de plagas hidrobiológicas, se logró obtener la siguiente información.

USOS CIENTÍFICOS Y PRODUCTIVOS:

INVESTIGACIÓN BÁSICA

La mayoría de los animales genéticamente modificados actualmente desarrollados caen en esta categoría. Estos animales, principalmente roedores, pero también conejos, cerdos, ovejas, cabras y vacas se utilizan para estudiar mecanismos genéticos de acción y función (Buhler et al., 1990; Wright et al., 1991; Eber et al., 1991; Krimpenfort et al., 1991; Wall et al., 1991). El uso de estos animales permite a los investigadores estudiar todo el organismo, para comprender mejor la función de los genes y evaluar la interacción entre diferentes órganos. También son utilizados para probar nuevas terapias. Sus aplicaciones en el mercado son numerosas, aunque principalmente restringidas a uso de laboratorio (Vázquez-Salat et al., 2012).

FABRICACIÓN DE PRODUCTOS TERAPÉUTICOS

El “pharming” es la utilización de animales de granja para la producción de proteínas humanas que pueden ayudar en el tratamiento de ciertas enfermedades (Dyck et al., 2003).

El uso de animales en la industria farmacéutica comienza ya en los años 20, cuando se describe la obtención de un extracto de insulina obtenida del páncreas del cerdo (Bersch et al., 1982). En estos casos, la proteína utilizada era la del propio cerdo, pero gracias a la generación de los transgénicos, los animales serían capaces de producir proteínas humanas complejas con actividad biológica de manera eficiente y rentable.

Los animales transgénicos se utilizan para la generación de proteínas recombinantes de interés terapéutico. Las proteínas recombinantes son todas aquellas proteínas obtenidas en una especie o línea celular distinta a la original, que en nuestro caso van a ser usadas para el tratamiento de enfermedades, pero que pueden tener diferentes usos (Sánchez & Gaeda, 2015).

De las proteínas producidas, las más importantes y por tanto de las que la industria consigue mayores beneficios son:

- Los anticuerpos monoclonales: Se utilizan para tratar muchas enfermedades, incluidos algunos tipos de cáncer
- Las hormonas: por ejemplo, la insulina que actualmente se comercializa es obtenida debido a la introducción del gen de la insulina humana en la bacteria *Escherichia coli*. Con esto se logra que la bacteria produzca con su propia maquinaria celular, una molécula idéntica a la insulina humana.
- Factores de crecimiento: Por ejemplo, Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF) que ha sido desarrollado como fármaco con el nombre de Nepidermina que estimula los procesos internos de reparación y regeneración de diferentes tejidos celulares, como el óseo, el epidérmico o el conectivo.

Otros ejemplos de proteínas producidas son: proteínas de fusión, citoquinas, enzimas terapéuticas, vacunas recombinantes y anticoagulantes (Aggarwal, 2012).

Gracias a la construcción de estructuras con expresión específica, podemos hacer que la proteína se exprese en diferentes tejidos del animal transgénico (Houdebine, 2002). Lo más fácil, para la posterior obtención y purificación de la proteína, es que dicha proteína se obtenga en un fluido al que se tenga fácil acceso sin dañar al animal. Por lo tanto, en la mayoría de los animales transgénicos la expresión se produce en fluidos corporales como orina, plasma seminal, leche o sangre. También se han obtenido muchas proteínas en huevos de aves transgénicas, ya que la clara es una sustancia rica en proteínas y fácilmente extraíble (Song & Han, 2011). Aunque al comienzo del desarrollo de la técnica parecía que iba producir una gran revolución en la industria farmacéutica y aunque más de 100 proteínas han sido producidas en leche de forma experimental, al año 2013 solo dos proteínas habían sido aprobadas para su utilización en humanos: la antitrombina III aprobada por la agencia europea del medicamento (EMA) en 2006 y por la Food and Drug Administration (FDA) en 2009 (Adiguzely et al., 2009), y el inhibidor de la esterasa C1 (INH C1) (Choi et al., 2007) aprobada por la EMA en Octubre del 2010 (Wang et al. 2013). Este decaimiento en el uso de proteínas utilizado en la leche se debe a que la generación de estos animales conlleva un proceso largo y costoso y muy pocos de ellos consiguen ser comercializados finalmente.

Las proteínas recombinantes obtenidas, además de actuar como fármacos para diferentes enfermedades, también pueden tener diferentes funciones. Un ejemplo serían aquellas proteínas que son beneficiosas para la salud al tener, por ejemplo, efectos antibacterianos, antifúngicos, antivirales, como es el caso de la lactoferrina y lisozima (Liu et al., 2013). Y otro ejemplo son proteínas con interés industrial, como es el caso de la producción de la proteína de seda de araña en la leche de cabras transgénicas, que si se comercializa actualmente; BIOSTEEL. Se aplica para la obtención de fibras ligeras y muy resistentes para componentes militares y espaciales. También podría tener posibles aplicaciones médicas como: formación de tendones y ligamentos artificiales, suturas en los ojos y neurocirugía (Williams, 2003).

ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS EN AGRICULTURA

Los productos modificados genéticamente (OGM) contienen un rasgo adicional codificado por un gen o genes introducidos, que generalmente producen una proteína(s) adicional(es) que le confieren un rasgo de interés (Ahmed, 2002; Löfstedt et al. 2002; Holst-Jensen et al. 2006; Bock & Norris 2016; Cano et al. 2017). Esto es lo que técnicamente se conoce como un organismo transgénico. En Australia y Nueva Zelanda se aplica una definición más amplia de los OGMs, contenida en el *Food Standards Australia New Zealand Act 1991* y el *Australia New Zealand Food Standards Code*, administrado por *Food Standards Australia New Zealand* (FSANZ, (Kelly 2018). En ella, un GMA es “un organismo que ha sido modificado con tecnología genética o ...” y Tecnología Genética como “cualquier técnica para la modificación de genes u otro material genético, pero no incluye ...” (Thygesen 2019). Esta definición es deliberadamente más amplia a fin de evitar que sus márgenes queden superados por el desarrollo tecnológico, pero está acompañada de una revisión permanente de lo que se considera o no un OGM de acuerdo a la evidencia científica y el desarrollo de nuevas tecnologías (Thygesen 2019). Estas normas, que datan de inicios de los 2000, aún están en revisión. En la Unión Europea, la Corte Suprema de la UE ha establecido que, ya que el Artículo 2 de la Directiva 2001/18 incluye las mutagénesis en todas sus formas, aquellos organismos obtenidos por mutagénesis dirigida o que han sido objeto de edición genética serían OGMs (Wanner et al. 2019). Así, distintos países o grupos de países han adoptado

definiciones variadas de qué es o no es un OGM y, derivado de ello, los procesos de regulación establecen medidas de control sobre un rango distinto de posibles modificaciones genéticas, generalmente basados en la tecnología aplicada y no en los efectos fenotípicos producidos y sus potenciales efectos. Las formas de GMO más comunes en agricultura son aquellas producidas por transgénesis. Una variedad de plantas de cultivo ha sido genéticamente modificadas para mejorar su resistencia a diferentes estresores, como plaguicidas, insectos, virus, falta de agua, resistencia a bajas temperaturas, entre otros, y combinaciones de estresores. Las especies que han sido objeto de este tipo de modificaciones incluyen el arroz, mostaza, maíz, papas, tomates, papaya, algodón, soya, entre otras (Ahmad et al. 2012). También se han desarrollado plantas con características saludables para el hombre, como el arroz “dorado”, que se le ha insertado un gen que le permite sintetizar betacaroteno y una cepa de mostaza con las mismas capacidades. Existen aplicaciones agrícolas, con nuevos genes que se agregan a varios cultivos como el maíz, la soja, el algodón, el tabaco, las papas, remolacha azucarera y la canola. Los más conocidos y usados de estos cultivos son aquellos tolerantes a los herbicidas glifosato (GMHT), protegidos por Bt (con ambas propiedades). Los cultivos GMHT toleran un herbicida no selectivo específico (que la firma que crea el cultivo vende a menudo), destinado a matar todas las plantas, excepto el cultivo protegido.

Los cultivos protegidos con Bt contienen un gen proveniente de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, que produce una proteína tóxica para ciertas bacterias, plagas y algunos otros insectos. En los cultivos de plantas transgénicas que portan este gen se evita o reduce el uso de plaguicidas, reduciendo gastos de producción y contaminación por estos agroquímicos. Por otra parte, el transgén puede dispersarse a través del polen e introgresar poblaciones conespecíficas no transgénicas, y la proteína presente en las plantas, exudada al suelo y sus desechos post-cosecha puede afectar negativamente a poblaciones de insectos no constitutivos de plagas, ya sean benéficos o neutros, con impactos ambientales indeseados. Sin embargo, los efectos deletéreos sobre el ambiente identificados muestran evidencias de un impacto global menor que el uso de plaguicidas agrícolas (Dale et al. 2002).

También hay peces, mamíferos, insectos y árboles transgénicos (es decir, con genes de otros organismos), aunque se sabe que ninguno es de uso comercial.

La introducción de cultivos transgénicos es uno de los desarrollos agrícolas más rápidos y generalizados en la historia de la humanidad. Aunque China comenzó a cultivar tabaco GM en 1988, el uso de cultivos transgénicos se generalizó solo a mediados de la década de 1990. De 1996 a 2000, el área global de cultivos transgénicos aumentó de 7 millones a 98.6 millones de hectáreas. Aunque al menos 13 países informaron uso comercial en 2000 (James, 2000; USDA, 2000), 75 millones de esas hectáreas estaban en los Estados Unidos (Löfstedt et al., 2002). Ya para el año 2007 los OGMs ocuparon más de 143 millones de hectáreas en 23 países, con soja, almidón, maíz y canola con cultivos dominantes (James, 2008).

USO APLICADO DE VIRUS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

La modificación genética de muchas especies virales ha sido posible durante más de 50 años, debido en parte a sus genomas pequeños y relativamente simples. El uso de virus habilitados con CRISPR para alterar el genoma de una segunda especie no viral en el medio ambiente (por ejemplo, una planta de cultivo o un vector de enfermedad de insectos) es un área activa de investigación. Las posibles aplicaciones que se podrían prever incluyen herbicidas o insecticidas específicos de la especie (a los cuales se podría manejar fácilmente la resistencia). Si bien las propuestas para el uso de virus genéticamente modificados generalmente comparten las ventajas tanto de la velocidad como de la flexibilidad de acción, aún quedan por resolver las cuestiones de larga data que rodean la controlabilidad de los virus en el medio ambiente (Reeves, 2019).

Ejemplos para uso de virus modificados genéticamente:

- Inmunización de la vida silvestre: Se ha propuesto utilizar virus genéticamente modificados para proteger las poblaciones de conejos salvajes utilizadas para la caza de otros virus que se introdujeron internacionalmente para controlar las poblaciones de plagas (por ejemplo, mixomatosis y enfermedad hemorrágica del conejo). Se realizó una prueba de campo de dicho virus en una la isla del Aire (España) en el año 2000. Se comprobó que el 42% de los conejos de la isla presentaba altos títulos de anticuerpo de las dos enfermedades (Reeves, 2019).

- Virus insecticidas: En este caso se realizan modificaciones genéticas para aumentar la patogenicidad de los virus a las plagas de insectos. Por ejemplo, pruebas de campo experimentales de un baculovirus modificado genéticamente para aumentar su patogenicidad a una plaga de cultivo de insectos fueron llevadas a cabo en Reino Unido en 1993, demostrándose un 25% de reducción en el tiempo de muerte comparado con virus de tipo salvaje (Cory et al., 1994).
- Paratransgénesis viral para limitar la capacidad de los insectos salvajes de propagar enfermedades: El objetivo es introducir un virus simbiótico modificado genéticamente en poblaciones salvajes de insectos en un esfuerzo por limitar la replicación o transmisión de patógenos que se propagan. Un posible ejemplo es la modificación de un virus que infecta a los mosquitos que transmiten la malaria. Los viriones de AgDNV (Virus de la denonucleosis de *Anopheles gambiae*) de tipo salvaje y transductores de EGFP fueron altamente infecciosos para larvas de *An. Gambiae* (50 % mosquitos tratados dieron positivo para el virus en PCR), diseminadas y expresadas en EGFP en tejidos adultos epidemiológicamente relevantes como el intestino medio, el cuerpo graso y los ovarios y un 28% se transmitieron a las generaciones posteriores de mosquitos. Estos datos de prueba de principio sugieren que AgDNV podría usarse como parte de una estrategia de control de la malaria paratransgénica mediante la transducción de anti-Péptidos de Plasmodium o toxinas específicas de insectos en mosquitos Anopheles (Ren et al., 2008).
- Control de patógenos bacterianos en la agricultura: Actualmente, una compañía estadounidense está desarrollando virus modificados para controlar una plaga bacteriana emergente de árboles de cítricos comerciales. Tienen una solicitud pendiente a los reguladores de EE. UU. para un permiso de uso experimental que cubre aproximadamente 7 millones de naranjos (USDA 17-044-101r). Se trata del virus genéticamente modificado del virus de la tristeza de los cítricos (CTV) que producen defensinas de espinaca (CTVSoD) como un método para controlar la enfermedad de enverdecimiento de los cítricos (HLB). La empresa Southern Gardens ha realizado previamente pruebas de campo a pequeña escala de CTV-SoD contenido en árboles de cítricos bajo los permisos APHIS que demostraron eficacia contra HLB. (Ledford, 2017).

INDUSTRIA DE MASCOTAS

Varios animales genéticamente modificados han sido desarrollados para fines recreativos. El primer animal genéticamente modificado comercializado fue GloFish con seis atractivas combinaciones de colores fluorescentes que incluyen: rojo, azul, verde, púrpura, naranja y rosa. (Pez cebra genéticamente modificado con un gen fluorescente que brillará en la oscuridad bajo luz UV) (Knight, 2003; Vick et al., 2012; Cheng-Yung et al., 2016).

CONTROL AMBIENTAL: BIORREMEDIACIÓN

Bioaumentación (adición de microorganismos específicos) y bioestimulación (Adición de compuestos específicos para potenciar el metabolismo de los microbios) son métodos que pueden aplicarse para acelerar la recuperación de sitios contaminados. Ya que, a través de las técnicas moleculares, ya sea a través de la cría de plásmidos o pura ingeniería genética, se pueden producir microbios rápidamente con capacidades catalíticas superiores, capaces de degradar básicamente cualquier efecto ambiental contaminante (Cases & Lorenzo, 2005).

Existen diferentes métodos habituales para la biorremediación, basados principalmente en el sitio de la biorremediación, in y ex situ (Tomei & Daugulis 2013).

La bioaumentación, la bioventilación, la bioespuma y la biorremediación in situ diseñada son los principales métodos de biorremediación in situ (Azubuike et al., 2016). Los métodos de biorremediación ex situ son el sistema de fase sólida (compostaje, cultivo en tierra y bioapilamiento) y el sistema de fase de lechada (biorreactores) (Kumar et al., 2011).

Estos métodos tradicionales de biorremediación toman tiempo y consumen muchos costos, lo que genera menos resultados. Los procesos tradicionales de biorremediación (Duarte et al., 2017) mostraron las limitaciones anteriores de tiempo adicional, menor remoción o disimilación de contaminantes, (Bharagava et al., 2019) alteración de la delicadeza de la naturaleza, como más

cobertura de tierra durante un tiempo prolongado, y un mal olor en el medio ambiente (Dangi et al., 2019; Kumar 2019).

Dvořák et al. (2017) describieron la biorremediación a través de la biología sintética para impulsar las estrategias de biorremediación. Este enfoque puede detectar las complejidades catabólicas (Jacquiod et al., 2014) y metabólicas para revisar el potencial de la población microbiana de forma sintética. Dentro de los avances recientes en el campo de la biología sintética se está realizando el uso de OGM en biotecnología ambiental para la remediación (Malla et al., 2018) de compuestos tóxicos, xenobióticos y compuestos pesticidas.

Herramientas como TALEN, CRISPR-Cas o ZFN crean el knock-in y knock-out y se están procesando para su implementación en estudios de biorremediación (Kumar V. et al., 2018).

Zuo et al. 2015 experimentaron realizando biorremediación en suelos agrícolas co-contaminados con plaguicidas organofosforados (OP) y piretroides utilizando *Pseudomonas putida* KT2440 modificada genéticamente. Mediante la introducción de un plasmido pudieron incorporar en el genoma de la bacteria un gen degradante de OP (mpd) y un gen de carboxilesterasa hidrolizante de piretroides (pytH). Los experimentos de degradación con cultivos líquidos mostraron que los pesticidas mixtos que incluían metil paratión, fenitrotión, clorpirifos, permetrina, fenpropatrina y cipermetrina (0,2 mM cada uno) se degradaron completamente en 48 h. La inoculación de la cepa manipulada en suelos tratados con los pesticidas mezclados anteriores resultó en una tasa de degradación más alta que en suelos no inoculados. Los seis pesticidas podrían degradarse completamente dentro de los 15 días en suelos fumigados y no fumigados con inoculación. Estos resultados destacan el potencial de la cepa diseñada para ser utilizada para la biorremediación in situ de suelos co-contaminados con OP y pesticidas piretroides.

Evaluación de riesgos y seguridad ecológica

Teniendo en cuenta que la biorremediación se realiza en un ambiente abierto en lugar de en un tanque de fermentación cerrado, se debe considerar la seguridad ecológica de las bacterias que realizan la biorremediación, sobre todo pensando en el uso de bacterias genéticamente modificadas. Por ejemplo, la competitividad entre especies naturales y genéticamente modificadas puede dar lugar a una presión de selección sobre la microflora no objetivo (Kumar

NM et al., 2018; Mohapatra et al., 2019). La evaluación del riesgo ecológico detrás de la adición de GEM (Genetically Engineered Microorganisms o microorganismos modificados genéticamente) al entorno nativo en lugar de un laboratorio se realiza principalmente dada la entrega innecesaria de marcadores de resistencia a antibióticos junto con el genoma recombinante de interés (Davison 2002; Nora et al., 2019), y la absorción o transferencia involuntaria de genes inducidos a otros microorganismos (French et al., 2019; Janssen & Stucki, 2020).

CONTROL AMBIENTAL: ECOTOXICOLOGIA

Los peces transgénicos se han aplicado en ecotoxicología donde tienen el potencial de proporcionar sistemas más avanzados e integrados para evaluar los impactos de los químicos en la salud.

Estos se han desarrollado para estudiar los efectos de la toxicidad por metales pesados (a través de los genes de la proteína de choque térmico), el estrés oxidativo, para varias sustancias químicas orgánicas que actúan a través del receptor de hidrocarburos arílicos, vías de respuesta a la tiroides y glucocorticoides, y la estrogenicidad. El pez cebra (*Danio rerio*) es el pez más popular para los modelos transgénicos, por razones que incluyen su alta fecundidad, la transparencia de sus embriones, la rápida organogénesis y la disponibilidad de amplios recursos genéticos (Lee et al., 2015).

El pez cebra tiene un genoma elevado (aproximadamente un 70%), similitudes estructurales y fisiológicas con los humanos (Blader & Strahle 2000; Briggs 2002). También se encuentran disponibles recursos genómicos de alta calidad para el medaka (Matsumoto et al. 2009), que tiene una gran diversidad genética dentro de las especies. El medaka tiene un genoma más pequeño, en comparación con el pez cebra (aproximadamente la mitad del tamaño) y el humano (un tercio del tamaño) (Naruse et al., 2004).

El pez cebra y el medaka se han convertido en organismos modelo populares para estudios sobre mecanismos moleculares de toxicidad química y análisis de resultados de comportamiento (Hill

et al., 2005; Nagel 2002; Puiseux-Dao & Edery 2006). El pez cebra transgénico y el medaka que emplean marcadores fluorescentes se utilizan no solo para identificar la activación de genes diana inducida químicamente, sino también para cuantificar la absorción relativa y la acumulación de sustancias químicas en esos tejidos.

El pez cebra transgénico tiene un potencial considerable para su uso en ecotoxicología acuática como biosensores y como modelos más efectivos para informar sobre los impactos en la salud de la exposición química (Blechinger et al., 2002; Bogers et al., 2006; Gorelick & Halpern 2011; Lee et al., 2012; Legler et al., 2000). Los peces biosensores funcionan con la premisa de que ciertos genes/contaminantes pueden inducir determinados genes, a menudo enzimas o receptores. La exposición del pez al contaminante en cuestión, o un agua natural que contiene ese contaminante, induce la activación de un promotor inducible que a su vez desencadena la expresión del informador (e.g. GFP).

Por ejemplo, el promotor del gen *cyp1a1* se ha utilizado para impulsar un gen indicador de GFP para medir la exposición a sustancias químicas orgánicas tanto en el pez cebra transgénico como en el medaka (Hung et al., 2012; Kim et al., 2013; Ng & Gong 2013). *Cyp1a1* es una enzima del citocromo P450 que interviene en el metabolismo oxidativo de diversas sustancias orgánicas, incluidos los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y los bifenilos policlorados (PCB). *Cyp1a1* también actúa como un marcador de la activación del receptor de aril hidrocarburo (AhR), un factor de transcripción activado por ligando conocido por mediar los efectos tóxicos de varias clases de contaminantes ambientales, incluidos los bifenilos policlorados (PCB), los hidrocarburos aromáticos policíclicos o halogenados (PAH) y dioxinas (por ejemplo, 2,3,7,8-tetraclorodibenzo- p- dioxina, TCDD) (Mattingly et al., 2001).

Como resultado los embriones transgénicos *Cyp1a* - GFP medaka (72 hpf) expuestos a TCDD (durante 24 h) mostraron expresión de GFP en riñón, hígado e intestino a una concentración de exposición de solo 0,005 nM (1,6 ng/L) (Ng y Gong 2013). Y en otro estudio se demostró que un pez cebra *Cyp1a*-GFP transgénico similar responde a los PCB en el hígado y el intestino a concentraciones de exposición de hasta 0,04 µg/ml (40 µg/L) ([Hung et al., 2012](#)).

CONTROL DE PLAGAS HIDROBIOLOGICAS

En Chile dentro del Reglamento sobre plagas Hidrobiológicas (REPLA), Título I Disposiciones generales se define como “Plaga hidrobiológica o plaga: la población de una especie hidrobiológica que por su abundancia o densidad puede causar efectos negativos en la salud humana, en las especies hidrobiológicas o en el medio, originando detrimento de las actividades pesqueras extractivas o de acuicultura y pérdidas económicas”.

A su vez, esta normativa excepciona de la calidad de plaga a aquellas especies que, siendo objeto de una medida de administración pesquera, se encuentren amparadas por alguna categoría de protección oficial, o se hubieren incluido en alguno de los listados de enfermedades a que se refiere el Reglamento de Medidas de Protección, Control y Erradicación de Enfermedades de Alto Riesgo para las Especies Hidrobiológicas (RESA). Es así que, por ejemplo, nadie discute que el *Caligus sp.* constituye una especie hidrobiológica catalogable como plaga, pero como está tratado en la Lista 2 de enfermedades de alto riesgo para peces, para efectos de este reglamento no se considera tal.

Uso de tecnologías GM para diseñar una resistencia específica a plagas en especies de producción.

Se puede generar un organismo con genes que confieren resistencia a antibióticos, pesticidas y herbicidas dentro de un monocultivo algal. Por ejemplo, una cepa diseñada con un gen de resistencia a herbicidas puede tratarse con este compuesto para asegurar el crecimiento en monocultivo de la cepa GM y prevenir la invasión del cultivo por especies competidoras de crecimiento más rápido. Bruggeman et al., 2014 desarrollaron y probaron genes que confieren resistencia a los herbicidas glifosato, oxifluorfenol y norflurazón para su uso como marcadores seleccionables dominantes en la transformación genética de *Chlamydomonas reinhardtii* como herramientas potenciales para la protección de las instalaciones de producción de algas a escala comercial contra la contaminación por organismos sensibles a estos herbicidas de amplio espectro. Como resultado obtuvieron una producción de células transgénicas tolerantes a niveles 40 veces más altos de norflurazón que las células no transgénicas. La alta eficiencia de los tres genes de resistencia a herbicidas en la producción de células transgénicas demostró su idoneidad

como marcadores seleccionables dominantes para la transformación genética de *Chlamydomonas* y, potencialmente, otras algas eucariotas.

Floraciones Algales Nocivas (FAN)

Mirado desde otro enfoque dentro de esta categoría podemos encontrar múltiples microalgas que están siendo modificadas genéticamente por ejemplo para mejorar o modificar la actividad metabólica que es muy prometedora para la explotación biotecnológica (Beacham et al. 2017).

La liberación de microalgas en el medio ambiente podría tener efectos ecológicos negativos potenciales, como alterar las redes tróficas, desplazar el fitoplancton nativo, causar extinciones locales, formación de floraciones peligrosas de algas (FAN) y tener efectos sociales graves cuando estén implicadas cepas nocivas / tóxicas (Campbell 2011).

Desde cianobacterias hasta dinoflagelados, hasta 300 especies de microalgas se informa que forman floramientos en el entorno natural y se sabe que casi una cuarta parte de estas especies producen toxinas. Estas especies se conocen como formadoras de 'floración de algas nocivas' (FAN) y se dividen en 2 categorías (Anderson et al., 2002): Los productores de biomasa alta, que pueden causar grandes regiones de hipoxia resultando en la muerte indiscriminada de vida marina después de alcanzar concentraciones densas (Henley et al., 2013), y los productores de toxinas como *Gymnodinium mikimotoi* (Lu et al., 2004) y *Karenia brevis* (Pierce & Henry 2008) que contaminan los suministros de alimentos causando matanzas masivas de peces y muerte de animales y aves (Sholin et al., 2000). Las toxinas suelen estar presentes en el agua donde la acción de las olas puede crear aerosoles que contiene toxinas y restos celulares. Los animales, incluidos los seres humanos, están expuestos a toxinas cuando consumen mariscos contaminados, tienen contacto con agua contaminada o inhalan aerosoles contaminados (Backer & McGillicuddy 2006). Algunas de estas especies como *Alexandrium fundyense* (Anderson et al., 2012) tienen efectos tóxicos en densidades celulares bajas y no necesitan formar “floraciones” de alta densidad para causar problemas. Por tanto, el cultivo a gran escala, aunque controlado, de cualquiera de estas cepas (y sus derivados modificados genéticamente) puede suponer un grave riesgo para la salud humana. Si es posible, debe evitarse el uso de algas formadoras de FAN (a menos que la toxina en sí sea el producto deseado), o las cepas deben modificarse adicionalmente para reducir el potencial de producción de toxinas.

Cualquier especie de algas modificada genéticamente utilizada en un área que no es nativa del parental de tipo salvaje no modificado genéticamente debe considerarse como potencialmente invasivo y evaluarse el riesgo como tal, ya que la liberación de dicha especie podría representar una amenaza ecológica grave independientemente de la presencia o ausencia de modificación genética.

PRODUCTIVIDAD ANIMAL

La mayoría de los animales genéticamente modificados en esta categoría han sido modificados para aumentar crecimiento, para ser resistentes a las enfermedades o para aumentar la calidad de sus productos (carne, leche, etc.) (Vázquez-Salat et al., 2012). Uno de los ejemplos más reconocidos es una raza de vaca llamada Belgian Blu, sin embargo, este animal no es transgénico, sino que es causado debido al resultado de décadas de cruzamiento selectivo lo que causa que esta raza sea enormemente musculosa ya que tiene una especial capacidad para convertir el alimento en músculo magro, que está asociado a modificaciones (mutaciones naturales) del gen de la miostatina (Grovet et al., 1997; Georges et al., 1998).

Actualmente el único ejemplo de animal genéticamente modificado (transgénico) que está siendo escalado a nivel de producción y ha sido aprobado para su consumo humano es el caso de salmón de la empresa Aquabounty, que en marzo de 2019 logro la aprobación de la FDA para la venta de su salmón transgénico AquaAdvantage™ (ver ejemplo más adelante).

Recientemente la misma empresa AquaBounty ha obtenido el visto bueno en Argentina para trabajar con su Tilapia editada genéticamente (FLT 01), ya que ha sido eximida de la regulación transgénica en ese país.

Según AquaBounty e Intrexon, la Tilapia desarrollada conjuntamente demuestra una mejora significativa en el rendimiento de filetes del 70%, una mejora en la tasa de crecimiento del 16% y una mejora en la tasa de conversión alimenticia del 14%, lo que ofrece a los productores la promesa de acortar el tiempo de cosecha. Las empresas señalan que un ciclo de producción acortado puede reducir los costos de insumos, aumentar los resultados de producción y reducir el riesgo de enfermedades.

La Tilapia modificada se desarrolló utilizando técnicas de edición de genes y no contiene ningún ADN extraño o nueva combinación de material genético que justifique su regulación como genéticamente modificado en Argentina.

Se destaca que en la actualidad no existen registros de otros animales modificados genéticamente (publicados) que hayan otorgado resultados esperados a nivel experimental y que hayan logrado ser llevados a escala comercial en el ámbito de la producción animal, ni próximos a salir al mercado.

PROYECCIÓN EN LA INDUSTRIA ACUÍCOLA

La domesticación y el mejoramiento genético del ganado se han producido durante varios milenios mediante programas de cría y los resultados han sido sorprendentes (e.g. la cría selectiva ha llevado a un aumento triple en la eficiencia de producción de leche en vacas (Van Eenennaam, 2017)). Por el contrario, los programas modernos de cría selectiva en especies acuícolas sustentan relativamente poca producción (Gjedrem et al., 2012; Gjedrem, 2012). La mayoría de las especies acuáticas que se cultivan todavía se obtienen de la naturaleza, lo que sugiere que existe una variación genética permanente considerable para los rasgos de importancia económica. Por su biología reproductiva, las especies acuáticas suelen ser susceptibles de la aplicación de tecnologías genéticas y de reproducción, permitiendo una alta intensidad de selección y, por lo tanto, una ganancia genética. Esto se debe, en parte, a la alta fecundidad casi universal de las especies acuáticas y las grandes familias nucleares resultantes, que pueden facilitar la recopilación de extensos registros fenotípicos en parientes cercanos (incluidos hermanos completos) de candidatos de selección en programas de reproducción. La producción reproductiva de reproductores mejorados genéticamente junto con la facilidad de transporte de huevos y juveniles, también significa que la difusión generalizada de las poblaciones mejoradas puede tener un impacto rápido en la producción (Gratacap et al., 2019). La selección genómica ha tomado relevancia en varios sectores acuícolas de importancia mundial, ya que ofrece una mayor precisión de selección que la selección basada en fenotipos y pedigrí (Houston, 2017; Zenger et al., 2018).

Los peces modificados genéticamente se han creado para estudiar procesos específicos, incluida la tolerancia al frío, y para mejorar tanto la resistencia a las enfermedades, como la tasa de crecimiento en especies acuícolas (Devlin et al., 2004; Du et al., 1992; Dunham, 2009; Wang et al., 1995). Los genes de interés en los que se ha trabajado han sido: la hormona del crecimiento, metalotioneína, proteína anticongelante cristalina, esterasa y secuencias de genes reguladores (Davies et al., 1989; Gong & Hew 1995; Gong et al., 2003; Yazawa et al., 2005), en peces como: trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), salmón del atlántico (*Salmo salar*), salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), la carpa común (*Cyprinus carpio*), la carpa dorada (*Carassius auratus*) y el pez cebra (*Danio rerio*) (Devlin et al. 2004; Dunham, 2002; Lawson & Weinslein, 2002; Saunders et al., 1998; Uzbekova et al., 2000).

En el caso de la transgénesis se ha utilizado por ejemplo para aumentar la tolerancia a variables como la temperatura, la salinidad o la hipoxia (Guan et al., 2011; Zhong & Fan, 2002) y más recientemente en el caso de la edición del genoma (esto no corresponde a transgénesis, ver objetivo 1) se ha utilizado específicamente la técnica de CRISPR / Cas9 con éxito in vivo y / o en líneas celulares de varias especies importantes dentro de la acuicultura como Salmonidae, Cyprinidae, Siluridae entre otras (Ver Tabla 5) teniendo como objetivo los siguientes rasgos de reproducción (Gratacap et al., 2019):

- Esterilidad: Crear animales estériles para la acuicultura es deseable para prevenir la introgresión con los ejemplares silvestres y evitar consecuencias negativas en el entorno. Un ejemplo de esto es el Salmon del Atlántico en donde Wargelius et al., 2016 investigó si es posible producir salmón libre de células germinales en F0 mediante el uso de CRISPR-Cas9 para anular el *dnd*, un factor necesario para la supervivencia de las células germinales en vertebrados. Las mutaciones inducidas para los genes trazador (*alb*) y diana (*dnd*) estaban altamente correlacionadas y produjeron peces sin células germinales que carecían de pigmentación, lo que subraya la idoneidad del gen *alb* para servir como trazador de mutaciones alélicas dobles dirigidas en animales F0 en especies con tiempos de generación prohibitivamente largos.

- Crecimiento: Para los rasgos relacionados con el crecimiento la edición se genera sobre el gen de la miostatina, lo que resulta en peces más grandes. Zhong et al. en el año 2016 utilizaron la técnica CRISPR-Cas9 y la emplearon para apuntar al gen supresor muscular *mstn*. Los resultados mostraron que los peces mutados con *mstnba* desarrollaron significativamente más células musculares. Las carpas comunes de *mstnba* - CRISPR crecieron (aumento en peso y longitud corporal) más que los controles no inyectados en los tres puntos de tiempo (1, 2 y 3 meses después de la fertilización). Además, la tinción con H&E (hematoxilina y eosina) del músculo dorsal de la carpa mostró un número significativamente mayor de células musculares y fibras musculares y un tamaño significativamente mayor de las fibras musculares en las carpas *mstnba* -CRISPR en comparación con los controles no inyectados. En este estudio se ha logrado hasta un 100% de eficiencia de mutagenesis no solo en embriones y juveniles examinados, sino también en los testículos.
- Resistencia a enfermedades: Se espera que la investigación prospere para comprender y mejorar la resistencia a las enfermedades como un rasgo objetivo clave para la acuicultura. Por ejemplo, mejorar nuestra comprensión fundamental de la respuesta del huésped a la infección en peces y poder conducir a protocolos de tratamientos más efectivos (Chakrapani et al., 2016). En el mismo sentido, se podría utilizar para generar líneas celulares mejoradas, por ejemplo, al permitir una producción más eficiente de virus para el desarrollo de vacunas al eliminar componentes clave de la vía del interferón (Dehler et al., 2016). Por ejemplo, Ma et al. en el 2018 utilizaron CRISPR/Cas9 para eliminar una secuencia específica de ADN de Molécula de adhesión de unión A (*gcJAM-A*) para evaluar la resistencia de la carpa herbívora contra varios genotipos de Reovirus de la carpa Herbívora (GCRV). Los ensayos de PCR cuantitativa en tiempo real indicaron que los niveles de transcripción de GCRV-JX0901 (Subtipo vírico I) y HGDRV (Subtipo vírico III) se redujeron significativamente en un 60,53% y un 56,89% en las células *gcJAM-A-KO*.

El análisis de la expresión de la proteína viral también mostró una reducción significativa en las proteínas intracelulares evidente a partir de la tinción por inmunofluorescencia y el análisis de transferencia Western. A las 48 h después de la infección, la mayoría de las

células de control infectadas con GCRV-JX0901 o HGDRV eran antígeno positivas. Por el contrario, las células gcJAM-A-KO infectadas con GCRV mostraron una disminución significativa en la intensidad de la tinción Cy3, lo que indica una reducción en la expresión de la proteína viral.

Los resultados de este estudio demostraron la construcción exitosa de un sistema de edición del genoma CRISPR/Cas9 que se puede usar para suprimir múltiples genotipos de GCRV y corroboran que gcJAM-A es necesario para generar una infección por GCRV eficiente.

Algunas de las razones prácticas por las que la edición del genoma tiene tanto potencial para la investigación y aplicaciones en la industria acuícola son:

- 1) Facilidad de acceso a miles de embriones fertilizados externamente
- 2) El gran tamaño de esos embriones que facilitan la microinyección a mano.
- 3) Facilidad de transporte de huevos y juveniles

Paralelamente, están disponibles genomas de referencia de alta calidad y bien anotados para la mayoría de las especies clave en acuicultura a nivel mundial, ya que un genoma de referencia especie específico de alta calidad es esencial para el diseño efectivo de gRNAs. Estas corresponden a 24 especies acuícolas que se presentan en la Tabla 6.

Aplicaciones de la edición del genoma para la investigación y producción de acuicultura

Hay tres categorías principales mediante las cuales se podría aplicar la tecnología de edición del genoma para realizar cambios escalonados en la mejora genética, y cada una requiere enfoques diferentes para la investigación subyacente que conduce al descubrimiento de alelos funcionales:

- (i) Descubrimiento de variantes causales subyacentes a QTL (*Quantitative trait locus*) simples o múltiples que afectan los rasgos de interés, y la fijación posterior de los alelos favorables mediante la edición: Esta aplicación tiene el potencial de acelerar la

ganancia genética en comparación con el pedigrí o la selección genómica sola (Jenko et al., 2015). Y también el mismo enfoque podría usarse para eliminar las variantes perjudiciales que son inevitables en las poblaciones, tanto las variantes de gran efecto (por ejemplo, mutaciones letales recesivas) como las cargas perjudiciales más poligénicas (Johnsson et al., 2019).

Un ejemplo de la eficacia del uso de estos marcadores en particular, se ilustra por los esfuerzos para seleccionar la resistencia contra el virus responsable de la necrosis pancreática infecciosa (NPI). Esta enfermedad había sido un problema importante para la industria, tanto en agua dulce como en engorda marina. Un QTL significativo para el rasgo, que explica casi toda la variación genética, fue descubierto independientemente por dos grupos. El gran efecto de este QTL es la consistencia en ambos entornos de crecimiento; los peces que heredan dos copias son resistentes a la enfermedad, los peces que no heredan ninguna copia son altamente susceptibles y los que tienen una copia tienen una supervivencia superior al 50% (Houston et al., 2008).

La incorporación de marcadores para este QTL en los programas de selección del salmón del Atlántico ha tenido un gran efecto sobre la supervivencia. Aunque el caso de la IPN es inusual, dado que la resistencia a las enfermedades generalmente tiene una arquitectura poligénica y, por lo tanto, no es tan fácil de seleccionar en un programa de mejoramiento con marcadores únicos, este caso ha demostrado a la industria el poder potencial del uso de marcadores genéticos para aumentar la eficiencia y precisión de los métodos de reproducción tradicionales para aumentar la supervivencia contra patógenos específicos para los que existe un componente genético significativo (Norris 2017).

- (ii) Introgresión por edición de alelos favorables en sistemas de reproducción cerrados de otras poblaciones, cepas o especies: Es común que una cepa particular de animales, o una especie estrechamente relacionada, tenga una característica deseable. Si se pueden identificar los alelos responsables de esa variación intra o interespecífica en el fenotipo, entonces la tecnología CRISPR potencialmente permite editar el alelo desfavorable en la cepa y / o especie objetivo para que corresponda a la secuencia

del alelo favorable encontrado en la cepa relacionada o especies (es decir, introgresión por edición). Por ejemplo, en el Salmón de Atlántico, el piojo de mar (*Lepeophtheirus salmonis* en el hemisferio norte y *Caligus rogercresseyi* en el hemisferio sur) tiene un impacto devastador la acuicultura, a diferencia de salmón salmón Coho (*Oncorhynchus kisutch*) y el salmón rosado (*Oncorhynchus gorbuscha*), son en gran medida resistentes a los piojos de mar (Johnson & Albright, 1992; Jones et al. 2007). Por lo que sería muy atractivo transferir este mecanismo de resistencia, ya que es plausible que haya genes reguladores clave en las vías que sustentan la resistencia diferencial entre las especies que podrían modificarse en el salmón del Atlántico para imitar la respuesta a los piojos de mar exhibidos por el salmón Coho.

- (iii) Creación y uso de alelos de *novo* (es decir, aquellos alelos que son distintos de los que ocurren naturalmente, a nuestro leal saber y entender) con efectos positivos sobre el rasgo de interés: En este enfoque, se pueden crear alelos novedosos utilizando CRISPR / Cas9 basado en el conocimiento a priori de la biología del rasgo de interés, o de enfoques de perturbación genética del genoma para identificar genes candidatos que influyen en el rasgo (Gratacap et al., 2019). Se ha utilizado enfoques similares en la acuicultura, en donde por ejemplo se ha realizado la selección del gen *mstn1* en varias especies de peces para aumentar el crecimiento, como es el caso de los alevines de bagre (*Ictalurus punctatus*) editados con *MSTN* en donde como resultado tenían más células musculares que los controles, y el peso corporal medio de los alevines editados genéticamente aumentó en un 29,7%. (Khalil et al., 2017).

Especies	Gen objetivo	Rasgo de interés	Características notables	Referencia
Salmon del Atlántico, <i>Salmo salar</i>	tyr/slc45a2	Pigmentación		Edvardsen et al., 2014
	dnd	Esterilidad		Wargelius et al., 2016
	elov-2	omega-3 metabolismo		Datsomor et al., 2019
Tilapia, <i>Oreochromis niloticus</i>	dmrt1/nanaos2-3/foxl2	Reproducción	Transmisión de la línea germinal	Li et al., 2014
	gsdf	Reproducción		Jiang et al., 2016
	aldh1a2/cyp26a1	Reproducción		Feng et al., 2015
	sf-1	Reproducción	Transmisión de la línea germinal	Xie et al., 2016
	dmrt6	Reproducción		Zhang et al., 2014
	amhy	Reproducción		Li et al., 2015
	wt1a/wt1b	Reproducción		Jiang et al., 2017
Dorada, <i>Sparus aurata</i>	mstn	Crecimiento		Kishimoto et al., 2018
Bagre de canal, <i>Ictalurus punctatus</i>	mstn	Crecimiento	Transmisión de la línea germinal	Khalil et al., 2017
	ticam1/rbl	Inmunidad		Elaswad et al., 2018;
	LH	Esterilidad		Qin et al., 2016
Bagre del sur, <i>Silurus meridionalis</i>	cyp26a1	Desarrollo de células germinales		Li et al., 2016
Carpa común, <i>Cyprinus carpio</i>	sp7a/sp7b/mstn(ba)	Desarrollo muscular		Zhong et al., 2016
Carpa Rohu, <i>Labeo rohita</i>	TLR22	Inmunidad	Reparación dirigida por homología	Chakrapani et al., 2016
Carpa herbívora, <i>Ctenopharyngodon idella</i>	gcjam-a	Resistencia a las enfermedades	In Vitro	Ma et al., 2018
Lamprea del Norte de China, <i>Lethenteron morii</i>	slc24a5/kctd10/wee1/soxe2/wnt7b	Pigmentación / desarrollo		Zu et al., 2016
Trucha arcoiris, <i>Oncorhynchus mykiss</i>	igfbp-2b1/2b2	Crecimiento		Cleveland et al., 2018

Ostra japonesa, <i>Crassostrea gigas</i>	mstn	Crecimiento	Yu et al., 2019
--	------	-------------	-----------------

Tabla 5. Aplicaciones exitosas de la edición del genoma CRISPR / Cas9 hasta la fecha en especies de acuicultura. Extraído y modificado de Gratacap et al., 2019 (Para mayor información sobre datos como % de éxito, área de aplicación, nivel de desarrollo ver ANEXO 2)

Tabla 6. Genomas secuenciados en especies acuícolas. Extraído y modificado de Yu & Wang, 2017.

Nº	Nombre común	Especie	nº cromosoma 2n=	Tamaño Genoma (Mb)	Tamaño ensamblado (Mb)	Nº genes	Dirección web y referencia
1	Salmon del Atlántico	<i>Salmo salar</i>	54 o 72	2970	2240	37000	http://www.icisb.org/atlantic-salmon-genome-sequence/ (Davidson et al., 2010; Lien et al., 2016)
2	Bacalao del Atlántico	<i>Gadus morhua</i>	46	830	608	22154	http://www.codgenome.no (Star et al., 2011)
3	Ostra japonesa	<i>Crassostrea gigas</i>	20	637	559	28027	http://www.oysterdb.com (Zhang et al., 2012)
4	Ostra de perla de Akoya	<i>Pinctada fucata</i>	28	1150	1040	43760	N/A, (Takeuchi et al., 2012)
5	Anguila japonesa	<i>Anguilla japonica</i>	38	1100	1150	N/A	N/A, (Henkel et al., 2012)
6	Atún de aleta azul	<i>Thunnus orientalis</i>	48	800	740.3	26433	N/A, (Nakamura et al., 2013)
7	Bagre de canal	<i>Ictalurus punctatus</i>	58	1000	517	N/A	http://catfishgenome.org (Jiang et al., 2013; Liu et al., 2016)
8	Carpa común	<i>Cyprinus carpio</i> L.	100	1830	1530	52610	http://www.fishbrowser.org/carp/index.php (Xu et al., 2014)
9	Tilapia	<i>Oreochromis niloticus</i>	44	1000	815	21437	http://asia.ensembl.org/Oreochromis_niloticus (Brawand et al., 2014)
10	Lubina/róbalo	<i>Dicentrarchus labrax</i>	48	700	675	26719	http://seabass.mpipz.mpg.de (Tine et al., 2014)
11	Tongue sole /lengua	<i>Cynoglossus semilaevis</i>	42	520	477	21256	N/A, (Chen et al., 2014)
12	Trucha arcoíris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	76	3000	1877.5	46285	https://www.genoscope.cns.fr/trout/ (Berthelot et al., 2014)
13	Pez Globo	<i>Takifugu flavidus</i>	44	405	384	30285	N/A, (Gao et al., 2014)
14	Cabeza de toro antártica	<i>Nototothenia coriiceps</i>	N/A	1000	637	32260	N/A, (Shin et al., 2014)
15	Lucio europeo	<i>Esox lucius</i>	50	1100	878	N/A	N/A, (Rondeau et al., 2014)
16	Corvina amarilla	<i>Larimichthys crocea</i>	48	727	679	19326	N/A, (Ao et al., 2015; Wu et al., 2014; Xiao et al., 2015)
17	Barramundi	<i>Lates calcarifer</i>	48	700	585	22700	N/A, (Domingos et al., 2015; Vij et al., 2016)
18	Carpa herbívora	<i>Ctenopharyngodon idellus</i>	48	1070	891	27263	http://www.ncgr.ac.cn/grasscarp (Wang et al., 2015)
19	Silver pomfret	<i>Pampus argenteus</i>	50	554	350	16322	N/A, (AlMomin et al., 2015)
20	Asian arowana	<i>Scleropages formosus</i>	48	90	708	24274	N/A, (Austin et al., 2015)
21	Cangrejo de Shanghai	<i>Eriocheir sinensis</i>	146	1600	1200	14436	N/A, (Song et al., 2016)

22	Miiuy croake	<i>Müichthys müüü</i>	48	655	636	21960	N/A, (Xu et al., 2016)
23	Turbot	<i>Scophthalmus maximus</i>	44	568	544	22751	N/A (Figueras et al., 2016)
24	Pejelagarto pintado	<i>Lepisosteus oculatus</i>	58	1005	945	21443	http://asia.ensembl.org/Lepisosteus_oculatus/Info/Index (Braasch et al., 2016)

EJEMPLO Y CASO EXITOSO DE OGM EN ACUICULTURA LLEVADO A ESCALA COMERCIAL: SALMON TRANSGÉNICO AQUADVANTAGE

Este Salmon fue diseñado y generado por vez primera en el año 1989, y los primeros resultados se publicaron en 1992. La empresa AquaBounty solicitó su autorización para su comercialización y consumo a la FDA por vez primera en 1995, hace 25 años.

El salmón atlántico (*Salmo salar*), es uno de los animales más consumidos como fuente de proteína a nivel mundial pero requiere unos 36 meses (tres años) para llegar al tamaño comercial, y dado que provienen de piscifactorías siguen las pautas de crecimiento estacionales, creciendo fundamentalmente durante los meses cálidos de primavera y verano, siguiendo la expresión endógena del gen de la hormona de crecimiento. La característica diferencial del salmón AquaAdvantage es que incorpora un transgén que expresa el gen de la hormona de crecimiento del salmón Chinook del Pacífico (*Oncorhynchus tshawytscha*), bajo el control del promotor y las zonas reguladoras del gen de la proteína anti-congelante de un pez anguila bentónico (*Zoarces americanus*) que vive en el Atlántico Norte.

Así es como la empresa AquaBounty logra generar una construcción génica enteramente derivada de secuencias de ADN de peces. En donde el transgén permite la expresión del nuevo gen de la hormona de crecimiento en los meses fríos, de otoño e invierno, cuando se activa el gen de la proteína anti-congelante de forma natural manteniendo el crecimiento durante todo el año.

El resultado es que el salmón AquaAdvantage crece mucho más rápido que el salmón natural y por ello llega al mismo tamaño comercial en unos 18 meses (un año y medio) siendo además uno de los productos biotecnológicos más eficientes (1 kilogramo de comida se convierte aproximadamente en 1 kilogramo de salmón AquaAdvantage), consumiendo adicionalmente un 25% menos de pescado que sus congéneres naturales (Clifford, 2014).

Los huevos de estos salmones son producidos por la empresa en sus instalaciones de Prince Edward Island, en Canadá. Por seguridad, solamente se producen hembras, hemicigotas para el transgén (solamente está presente en uno de los cromosomas del salmón, en una determinada localización, no estando en el otro cromosoma homólogo), insertado en forma de una sola copia en el genoma del salmón. Además, se producen como organismos triploides, con tres copias de cada cromosoma, en lugar de las dos habituales, y por lo tanto todas ellas son estériles.

Actualmente con el primer ingreso de ovas del salmón AquaAdvantage a las instalaciones de cultivo en Indiana (Estados Unidos), se espera tener la primera cosecha del centro de Albany durante el otoño (boreal) de 2020.

PROYECCIÓN DE OGMH DENTRO LOS PRÓXIMOS AÑOS EN CHILE

Actualmente bajo la legislación vigente en Chile

La Ley 20.116 del 2006 que modifica la LGPA, con el fin de prohibir o regular la importación o cultivo de especies hidrobiológicas genéticamente modificadas. Estableciendo las sanciones relacionadas con el no cumplimiento de las medidas de protección y control que indica la ley respecto a OGMs hidrobiológicos (Artículo 118 bis, artículo 136 bis, artículo 137). Sanciones que van entre las 50 a 5.000 UTM, multiplicadas por tres o cuatro en caso de reincidencia, incluyendo presidio menor en distintos grados, y clausura de establecimientos.

Específicamente el artículo 136 bis indica:

"Artículo 136 bis.- El que realizare actividades de introducción, investigación, cultivo o comercialización con organismos genéticamente modificados sin contar con la autorización a que se refiere el artículo 87 bis, será sancionado con multa de 100 a 3.000 UTM y con pena de presidio menor en su grado mínimo. De la misma forma será sancionado aquel que importare dichos organismos sin contar con la autorización a que se refiere el artículo 12, inciso tercero."

Por lo tanto, hasta que no se actualice la legislación por ejemplo a la luz de las nuevas herramientas de la biotecnología moderna con la finalidad de sugerir cambios y mejoras a la ley, o se puedan tener claro cuáles son los reglamentos y registros (aun no existen) para poder realizar investigación en OGM hidrobiológicos, no existirá avance en esta materia.

MÉTODOS DISPONIBLES PARA DETECCIÓN DE OGM's EN CHILE

En Chile el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) cuenta con métodos de detección que permiten corroborar la identificación de los OGM autorizados para el proceso de multiplicación o ensayos confinados.

Los/as inspectores/as a lo largo del país cuentan con el uso de tiras reactivas o de flujo lateral (LFD, lateral flow device) para análisis en terreno y la posibilidad de enviar muestras al Laboratorio de Biotecnología del SAG ubicado en Lo Aguirre, para ser analizadas a través de PCR en tiempo real. Los métodos de detección disponibles permiten verificar la presencia de los eventos autorizados en muestras de semillas, hojas, mazorcas o planta completa, a través de la detección a nivel de proteína codificada, del gen de interés o de elementos genéticos (promotor, terminador, secuencia de destinación), estos últimos compartidos entre distintos OGM.

Tiras reactivas o ELISA

Las tiras reactivas o de flujo lateral corresponden a un test cualitativo de detección, que consisten en anticuerpos unidos a una membrana y que son específicos a la proteína que se desea detectar. Dentro de sus ventajas destacan su especificidad, el poder verificar la presencia del evento declarado en el mismo lugar de la inspección y la posibilidad de un resultado inmediato (Tabla 7).

En este formato se reúnen todos los reactivos en un soporte sólido y mediante el flujo por capilaridad de la muestra en solución se logra determinar la presencia o ausencia de una determinada proteína (análisis cualitativo). Este formato se ha aplicado exitosamente para la detección de un sinnúmero de moléculas de importancia en el diagnóstico veterinario y humano. El resultado de estas tiras es cualitativo (positivo o negativo) y la sensibilidad (o límite de detección) oscila entre 0.5% y 2% para determinados eventos y de 0.1% y 0.3% para otros (Tozzini, 2004).

Por otro lado el método de ELISA se fundamenta en el uso de anticuerpos específicos para capturar a la proteína de interés. Este procedimiento es capaz de discriminar proteínas específicas presentes en el producto bajo análisis, de entre cientos de proteínas distintas presentes en la misma muestra. El método de ELISA es extremadamente sensible, versátil y cuantitativo. En

general, este procedimiento, incluye el uso de anticuerpos que se unen de manera específica a las proteínas de interés (llamados anticuerpos primarios), por ejemplo, a aquellas que son sintetizadas como resultado de la introducción del nuevo ADN (llamadas proteínas transgénicas). Una reacción colorimétrica o fluorimétrica desencadenada por un segundo anticuerpo (o anticuerpo secundario) permite visualizar y medir la cantidad de la proteína de interés. El resultado se compara con la señal emitida por concentraciones conocidas de la misma proteína, por lo que el ensayo no solo es cualitativo, si no también cuantitativo. Una restricción para el uso de pruebas de ELISA en la detección de proteínas transgénicas es la desnaturalización de estas durante el procesamiento del alimento. Los resultados de esta prueba se estima que son confiables en un 95% de los casos sometidos (Ausubel et al., 1995).

PCR en tiempo real

La PCR permite la amplificación de un fragmento de ADN de interés con una alta sensibilidad y especificidad. Fragmentos de ADN con una longitud de 100pb hasta 1000pb son amplificados con la ayuda de una enzima polimerasa y dos cebadores. A través de una serie de ciclos térmicos diferenciales la enzima ayuda a la replicación y amplificación exponencial de la secuencia flanqueada por los cebadores. Finalmente, el fragmento amplificado está sujeto a un gel estándar de electroforesis, cuya presencia puede ser detectada basada en la determinación de su talla (Atlas & Bej, 1994).

Esta técnica permite la detección y cuantificación de elementos comunes y de los eventos específicos entre distintos OGM's. Dentro de sus ventajas, destacan la alta sensibilidad y especificidad para cada evento (Tabla 7).

Los procedimientos de detección a través de PCR tiempo real realizados por el SAG, se basan en los procedimientos publicados por el Joint Research Center (JRC) de la Unión Europea.

Entre los procedimientos publicados se encuentran los siguientes cultivos: Maíz, maíz de campo, maíz dulce, soya, algodón, canola, papa, arroz y remolacha azucarera (Joint Research Center, 2019).

Tabla 7. Principales diferencias de los ensayos basados en la detección de ADN y en la detección de proteínas. Extraído y modificado desde Corona et al., 2006.

Características	ADN (PCR)	Proteína (ELISA/Lateral flow)
Sensibilidad	Alta	Media
Sensibilidad a la contaminación	Alta	Baja
Complejidad	Alta	Media/Baja
Velocidad	Media	Media/Alta
Marcadores universales	Si	No
Flexibilidad en el diseño	Si	No
Disponibilidad de los marcadores	Si	Baja (anticuerpos)
Automatización	Si	Sí/No
Cuantificación	Si/No	Sí/No
Extensión	A todo	Material no procesado
Rasgos	A todo	Plantas tolerantes a herbicidas y protegidas de los insectos
Precio	Alto	Bajo
Robustez	Alta	Media
Confiablez	Alta	Media
Identificación	Posible	No posible

CONTROL SANITARIO EN OGM

El Control Sanitario consiste en evaluar la calidad e inocuidad de alimentos y bebidas alcohólicas nacionales e importadas, a fin de garantizar el cumplimiento de las normas sanitarias vigentes.

Cuando se habla de inocuidad de los alimentos se hace referencia a todos los riesgos, sean crónicos o agudos, que pueden hacer que los alimentos sean nocivos para la salud del consumidor.

La OMS ayuda a los Estados Miembros a fortalecer su capacidad para prevenir, detectar y gestionar los riesgos de origen alimentario mediante la realización de evaluaciones científicas independientes sobre los riesgos microbiológicos y químicos, que constituyen el fundamento del conjunto de normas, directrices y recomendaciones internacionales sobre los alimentos que se conocen como el Codex Alimentarius, con el fin de garantizar la inocuidad de los alimentos, sea cual sea su procedencia. En donde una de ellas es la evaluación de la inocuidad de las nuevas tecnologías utilizadas para la elaboración de alimentos, como la modificación genética y la nanotecnología.

A diferencia de los alimentos que representan nuevas variedades de organismos, para los OGM se han establecido sistemas específicos para la evaluación rigurosa en relación con la salud humana y el medio ambiente.

La evaluación de la seguridad de los alimentos modificados genéticamente generalmente se centra en: (a) los efectos directos en la salud (toxicidad), (b) el potencial de provocar una reacción alérgica (alergenicidad); (c) componentes específicos que se cree que tienen propiedades nutricionales o tóxicas; (d) la estabilidad del gen insertado; (e) efectos nutricionales asociados con la modificación genética; y (f) cualquier efecto no intencionado que pudiera resultar de la inserción del gen.

La aplicación continua de evaluaciones de inocuidad basadas en los principios del Codex Alimentarius y, cuando proceda, un adecuado seguimiento posterior a la comercialización, deberían constituir la base para garantizar la inocuidad de los alimentos modificados genéticamente (OMS, 2020).

El Codex desarrolló principios para el análisis de riesgos para la salud humana de los alimentos modificados genéticamente en 2003 a través de su documento: Principios para el análisis de riesgos de los alimentos derivados de la biotecnología moderna (CXG 44-2003).

La premisa de estos principios establece una evaluación previa a la comercialización, realizada caso por caso y que incluye una evaluación tanto de los efectos directos (del gen insertado) como de los efectos no deseados (que pueden surgir como consecuencia de la inserción del nuevo gen).

El Codex también desarrolló tres Directrices:

- Directriz para la realización de la evaluación de la inocuidad de los alimentos derivados de plantas de ADN recombinante (CXG 45-2003).
- Directriz para la realización de la evaluación de la inocuidad alimentaria de los alimentos producidos utilizando microorganismos de ADN recombinante (CXG 46-2003).
- Directriz para la realización de la evaluación de la inocuidad alimentaria de los alimentos derivados de animales de ADN recombinante (CXG 68-2008).

REFERENCIAS

- Adiguzel, C., Adiguzel, C., Iqbal, O., Demir, M., Fareed, J. (2009). European community and US-FDA approval of recombinant human antithrombin produced in genetically altered goats. *Clin Appl Thromb Hemost*, 15, 645-51.
- Aggarwal, S. R. (2012). What's fueling the biotech engine-2011 to 2012. *Nature Biotechnology*. 30,1191-7.
- Ahmad, P., Ashraf, M., Younis M., Hu X., Kumar A., Akram N.A., Al-Qurainy F. 2012. Role of transgenic plants in agriculture and biopharming. *Biotechnology Advances* 30: 524-540. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.09.006>
- Ahmed, F. (2002). Detection of genetically modified organisms in foods. *TRENDS in Biotechnology*, 20(5), 215-223.
- AlMomin, S., Kumar, V., Al-Amad, S., Al-Hussaini, M., Dashti, T., Al-Enezi, K., ... Akbar, A. (2015). Draft genome sequence of the silver pomfret fish, *Pampus argenteus*. *Genome*, 59, 51–58.
- Anderson, D.M., Alpermann, T.J., Cembella, A.D., Collos, Y., E. Masseret, Montresor, M. (2012). The globally distributed genus *Alexandrium*: multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae*, 14, 10–35.
- Anderson, D.M., Glibert, P.M., Burkholder, J.M. (2002). Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries*, 25, 704–726.
- Ao, J.Q., Mu, Y.N., Xiang, L.X., Fan, D.D., Feng, M.J., Zhang, S.C., ... Chen, X. (2015). Genome sequencing of the perciform fish *Larimichthys crocea* provides insights into molecular and genetic mechanisms of stress adaptation. *PLoS Genetics*, 11, e1005118.
- Atlas, R.M. & Bej, A.K. (1994). Polymerase Chain Reaction. In: Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Wood, W.A. and Krieg, N.R., (Eds.) *Methods for general and molecular bacteriology*. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, pp. 418-435.
- Austin, C.M., Tan, M.H., Croft, L.J., Hammer, M.P., Gan, H.M. (2015). Whole genome sequencing of the Asian arowana (*Scleropages formosus*) provides insights into the evolution of ray-finned fishes. *Genome Biology and Evolution*, 7, 2875–2885.
- Ausubel, F., Brent, R., Kingston, R., Moore, D., Seidman, J., Smith, J. & Struhl, K. (1995). *Current Protocols in Molecular Biology*. Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School. Jhohn Wiley & Sons, Inc. ed. Supplement 18, 30.
- Azubuikwe, C.C., Chikere, C.B., Okpokwasili, G.C. (2016). Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 32:180. doi: 10.1007/s11274-016-2137-x.
- Backer, L. & McGillicuddy, D. (2006). Harmful algal blooms. *Oceanography*, 19, 94–106.
- Beacham, T.A., Sweetb, J.B., Allena, M.J. (2017). Large scale cultivation of genetically modified microalgae: A new era for environmental risk assessment. *Algal Research*, 25, 90–100
- Bersch, N., Groopman, J. E., Golde, D. W. (1982). Natural and biosynthetic insulin stimulates the growth of human erythroid progenitors in vitro. *The Journal of Clinical endocrinology and metabolism*, 55(6), 1209-11.

- Berthelot, C., Brunet, F., Chalopin, D., Juanchich, A., Bernard, M., Noel, B., ... Guiguen, Y. (2014). The rainbow trout genome provides novel insights into evolution after whole-genome duplication in vertebrates. *Nature Communications*, 5, 3675.
- Bharagava, R.N., Purchase, D., Saxena, G., Mulla, S.I. (2019). “Applications of metagenomics in microbial bioremediation of pollutants: from genomics to environmental cleanup,” in *Microbial Diversity in the Genomic Era*, eds S. Das, and H. R. Dash (Cambridge, MA: Academic Press), 459–477.
- Blader, P., Strahle, U. (2000). Zebrafish developmental genetics and central nervous system development. *Hum Mol Genet*, 9, 945 – 51.
- Blechinger, S.R., Warren, J.T., Jr, Kuwada, J.Y., Krone, P.H. (2002) .Developmental toxicology of cadmium in living embryos of a stable transgenic zebrafish line. *Environ Health Perspect*, 110, 1041 – 6.
- Bock J.H. & Norris D.O. 2016. Summation and a Look to the Future; in *Forensic Plant Science* J.H. Bock and D.O. Norris eds. , Chapter 11, Academic Press. pp. 149-168. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801475-2.00011-7>.
- Bogers, R., Mutsaerds, E., Druke, J., De Roode, D.F., Murk, A.J., Van Der Burg, B., ... Legler, J. (2006). Estrogenic endpoints in fish early life-stage tests: luciferase and vitellogenin induction in estrogen-responsive transgenic zebrafish. *Environ Toxicol Chem*, 25, 241 – 7.
- Braasch, I., Gehrke, A.R., Smith, J.J., Kawasaki, K., Manousaki, T., Pasquier, J., ... Postlethwait, J.H. (2016). The spotted gar genome illuminates vertebrate evolution and facilitates human-teleost comparisons. *Nature Genetics*, 48, 427–437.
- Brawand, D., Wagner, C.E., Li, Y.I., Malinsky, M., Keller, I., Fan, S.H., ... Di Palma, F. (2014). The genomic substrate for adaptive radiation in African cichlid fish. *Nature*, 513, 375–381.
- Briggs, J.P. (2002). The zebrafish: a new model organism for integrative physiology. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 282, R3 – 9.
- Bruggeman, A.J., Kuehler, D., Weeks, D.P. (2014). Evaluation of three herbicide resistance genes for use in genetic transformations and for potential crop protection in algae production. *Plant Biotechnology Journal*, 12, 894–902.
- Buhler, T., Bruyere, T., Went, D., Stranzinger, G. & Burki, K. (1990). Rabbit beta-casein promoter directs secretion of human interleukin-2 into the milk of transgenic rabbits. *Biotechnology*, 8, 140-3.
- Campbell, M.L. (2011). Assessing biosecurity risk associated with the importation of nonindigenous microalgae, *Environ. Res*, 111, 989–998.
- Cano A., Díaz D. & Morgado C. 2017. The role of biotechnology in agricultural production and food supply. *Ciencia e Investigación Agraria*. 44: 1-11. <http://dx.doi.org/10.7764/rcia.v44i1.1567>.
- Cases, Il & de Lorenzo, V. (2005). Genetically modified organisms for the environment: stories of success and failure and what we have learned from them. *International Microbiology*. 8, 213-222.

- Chakrapani, V., Patra, S.K., Panda, R.P., Rasal, K.D., Jayasankar, P. & Barman, H. K. (2016). Establishing targeted carp TLR22 gene disruption via homologous recombination using CRISPR/Cas9. *Developmental and comparative immunology*, 61, 242–247.
- Chen, S.L., Zhang, G.J., Shao, C.W., Huang, Q.F., Liu, G., Zhang, P., ... Wang, J. (2014). Whole-genome sequence of a flatfish provides insights into ZW sex chromosome evolution and adaptation to a benthic lifestyle. *Nature Genetics*, 46(3), 253–260.
- Cheng-Yung, L., Cheng-Yi, C. & Huai-Jen, T. (2016). Zebrafish and Medaka: new model organisms for modern biomedical research. *Journal of Biomedical Science* 23: 19.
- Choi, G., Soeters, M. R., Farkas, H., Varga, L., Obtulowicz, K., Bilo, B. (2007). Recombinant human C1-inhibitor in the treatment of acute angioedema attacks. *Transfusion*, 47, 1028-32.
- Cleveland, B.M., Yamaguchi, G., Radler, L. M. & Shimizu, M. (2018). Editing the duplicated insulin-like growth factor binding protein-2b gene in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Scientific reports*, 8, 16054.
- Clifford, E. (2014). AquAdvantage® Salmon - a pioneering application of biotechnology in aquaculture. *BMC Proceedings*, 8 (Suppl 4):O31.
- Corona, B., Uffo, O., & Martínez, S. (2006). Detección de organismos genéticamente modificados (ogms) en la cadena alimentaria. *Rev. Salud Anim*, 28(2), 69-78.
- Cory, J.S., Hirst, M.L., Williams, T., Hails, R.S., Goulson, D., Green, B.M., ... Bishop, D.H.L. (1994). Field trial of a genetically improved baculovirus insecticide. *Nature*, 370, 138-140.
- Dale, P., Clarke, B. & Fontes, E. Potential for the environmental impact of transgenic crops. *Nat Biotechnol* 20, 567–574 (2002). <https://doi.org/10.1038/nbt0602-567>
- Dangi, A.K., Sharma, B., Hill, R.T., Shukla, P. (2019). Bioremediation through microbes: systems biology and metabolic engineering approach. *Crit. Rev. Biotechnol.* 39, 79–98. doi: 10.1080/07388551.2018.1500997
- Datsomor, A.K., Zic, N., Li, K., Olsen, R. E., Ji, Y., Vik, J. O., ... Winge, P. (2019). CRISPR/Cas9-mediated ablation of *elovl2* in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) inhibits elongation of polyunsaturated fatty acids and induces *Srebp-1* and target genes. *Scientific Reports*, 9, 7533.
- Davidson, W.S., Koop, B.F., Jones, S.J.M., Iturra, P., Vidal, R., Maass, A., ... Omholt, S.W. (2010). Sequencing the genome of the Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Genome Biology*, 11, 403.
- Davies, P.L., Fletcher, G.L., Hew, C.L. (1989). Fish antifreeze protein genes and their use in transgenic studies. *Oxford surveys on eukaryotic genes*, 6, 85-109.
- Davison, J. (2002). Towards safer vectors for the field release of recombinant bacteria. *Environ. Biosaf. Res.* 1, 9–18. doi: 10.1051/ebr:2002001.
- Dehler, C.E., Boudinot, P., Martin, S. A. & Collet, B. (2016). Development of an efficient genome editing method by CRISPR/Cas9 in a fish cell line. *Marine biotechnology*, 18, 449–452.

- Devlin, R.H., D' Andrade, M., Uh, M. & Biagi, C. A. (2004). Population effects of growth hormone transgenic coho salmon depend on food availability and genotype by environment interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 9303 – 8.
- Domingos, J.A., Zenger, K.R., Jerry, D.R. (2015). Whole-genome shotgun sequence assembly enables rapid gene characterization in the tropical fish barramundi, *Lates calcarifer*. *Animal genetics*, 46, 468–469.
- Du, S.J., Gong, Z.Y., Fletcher, G.L., Shears, M.A., King, M.J., Idler, D.R., ... Hew, C.L. (1992). Growth enhancement in transgenic Atlantic salmon by the use of an “all fish” chimeric growth hormone gene construct. *Biotechnology (NY)*. 10, 176 – 81.
- Duarte, M., Nielsen, A., Camarinha-Silva, A., Vilchez-Vargas, R., Bruls, T., Wos-Oxley, M. L., ... Pieper, D.H. (2017). Functional soil metagenomics: elucidation of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation potential following 12 years of in situ bioremediation. *Environ. Microbiol.* 19, 2992–3011. doi: 10.1111/1462-2920.13756.
- Dunham, R.A. (2009). Transgenic fish resistant to infectious diseases, their risk and prevention of escape into the environment and future candidate genes for disease transgene manipulation. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 32, 139 – 61.
- Dunham, R.A., Chatakondi, N., Nichols, A., Chen, T.T., Powers, D.A., Kucuktas, H. (2002). Survival of F2 transgenic common carp (*Cyprinus carpio*) containing pRSVrtGH1 complementary DNA when subjected to low dissolved oxygen. *Marine Biotechnology (NY)*, 4, 323 – 7.
- Dvořák, P., Nikel, P. I., Damborský, J., de Lorenzo, V. (2017). Bioremediation 3.0: engineering pollutant-removing bacteria in the times of systemic biology. *Biotechnol. Adv.* 35, 845–866. doi: 10.1016/j.biotechadv.2017.08.001.
- Dyck, M.K., Lacroix, D., Pothier, F. & Sirard, M.A. (2003). Making recombinant proteins in animals--different systems, different applications. *Trends in Biotechnology*, 21(9), 394-9.
- Ebert, K., Selgrath, J., Ditullio, P., Denman, J., Smith, T., Memon, M., ... Gordon, K. (1991). Transgenic production of a variant of human tissue-type plasminogen activator in goat milk: generation of transgenic goats and analysis of expression. *Biotechnology*, 9, 835-8.
- Edvardsen, R.B., Leininger, S., Kleppe, L., Skaftnesmo, K.O. & Wargelius, A. (2014). Targeted mutagenesis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) using the CRISPR/Cas9 system induces complete knockout individuals in the F0 Generation. *PLoS One*, 9(9), e108622.
- Elaswad, A., Khalim, K., Ye, Z., Liu, Z., Liu, S., Peatman, E., ... Dunham, R. (2018). Effects of CRISPR/Cas9 dosage on TICAM1 and RBL gene mutation rate, embryonic development, hatchability and fry survival in channel catfish. *Scientific Reports*, 8, 16499.
- Feng, R., Fang, L., Cheng, Y., He, X., Jiang, W., Dong, R., ... Wang, D. (2015). Retinoic acid homeostasis through *aldh1a2* and *cyp26a1* mediates meiotic entry in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Scientific Reports*, 5, 1–12.
- Figueras, A., Robledo, D., Corvelo, A., Hermida, M., Pereiro, P., Rubiolo, J.A., ... Martínez, P. (2016). Whole genome sequencing of turbot (*Scophthalmus maximus*; Pleuronectiformes): a fish adapted to demersal life. *DNA Research*, 23 (3), 181-92. doi: 10.1093/dnares/dsw007.

- French, K. E., Zhou, Z., Terry, N. (2019). Horizontal "gene drives" harness indigenous bacteria for bioremediation. *bioRxiv* [Preprint] doi: 10.1101/735886v2.
- Gao, Y., Gao, Q., Zhang, H., Wang, L.L., Zhang, F.C., Yang, C.Y., ... Song, L. (2014). Draft sequencing and analysis of the genome of pufferfish *Takifugu flavidus*. *DNA Research*, 21, 627–637.
- Georges, M., Grobet, D., Poncelet, L., Royo, J., Pirottin, D. & Brouwers, B. (1998). Positional candidate cloning of the bovine MH locus identifies an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double muscling in cattle. *En: World Congress of Genetics Applied to Livestock Production*, 26, 195-205.
- Gjedrem, T. (2012). Genetic improvement for the development of efficient global aquaculture: a personal opinion review. *Aquaculture*, 344–349, 12–22.
- Gjedrem, T., Robinson, N. & Rye, M. (2012). The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein: a review. *Aquaculture*, 350–353, 117–129.
- Gong, Z. & Hew, C.L. (1995). Transgenic fish in aquaculture and developmental biology. *Current Topics in Developmental Biology*, 30, 177-214.
- Gong, Z., Wan, H., Tay, T.L., Wang, H., Chen, M. (2003). Development of transgenic fish for ornamental and bioreactor by strong expression of fluorescent proteins in the skeletal muscle. *Biochemical and biophysical research communications*, 308, 58-63.
- Gorelick, D.A., Halpern, M.E. (2011). Visualization of estrogen receptor transcriptional activation in zebrafish. *Endocrinology*, 152, 2690 – 703.
- Gratacap, R.L., Wargelius, A., Edvardsen, R. B. & Houston, R.D. (2019). Potential of Genome Editing to Improve Aquaculture Breeding and Production. *Trends in Genetics*, 35(9), 672-684.
- Grobet, L., L. Martin, D. Poncelet, D. Pirottin, B. Brouwers, J. Riquet, ..., M. Georges. (1997). A deletion in the bovine myostatin gene causes the doublemuscled phenotype in cattle. *Nature Genetics*, 17, 71-4.
- Guan, B., Ma, H., Wang, Y., Hu, Y., Lin, Z., Zhu, Z., Hu, W. (2011) Vitreoscillahemoglobin (VHb) overexpression increases hypoxia tolerance in zebrafish (*Danio rerio*). *Marine biotechnology*, 3, 336-344.
- Henkel, C.V., Dirks, R.P., de Wijze, D.L., Minegishi, Y., Aoyama, J., Jansen, H.J., ... van de Thillart, G.E. (2012). First draft genome sequence of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Gene*, 511, (2), 195–201.
- Henley, W.J., Litaker, R.W., Novoveská, L., Duke, C.S., Quemada, H.D., Sayre, R.T. (2012). Initial risk assessment of genetically modified (GM) microalgae for commodity-scale biofuel cultivation. *Algal Res.*, 2, 66–77.
- Hill, A.J., Teraoka, H., Heideman, W., Peterson, R.E. (2005). Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. *Toxicol Sci*, 86, 6 – 19.
- Holst-Jensen A., Deloose M., & Van Den Eede G. 2006. Coherence between legal requirements and approaches for detection of genetically modified organisms (GMOs) and their derived products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 54:2799–2809.

- Houdebine, L. M. (2002). The methods to generate transgenic animals and to control transgene expression. *J Biotechnol*, 98,145-60.
- Houston, R.D. (2017). Future directions in breeding for disease resistance in aquaculture species. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46, 545–551.
- Houston, R.D., Haley, CS., Hamilton, A., Guy, D.R., Tinch, A.E., Taggart, JB., ... Bishop, S.C. (2008). Major quantitative trait loci affect resistance to infectious pancreatic necrosis in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Genetics*, 178 (2), 1109–1115.
- Hung, K.W., Suen, M.F., Chen, Y.F., Cai, H.B., Mo, Z.X., Yung, K.K. (2012). Detection of water toxicity using cytochrome P450 transgenic zebrafish as live biosensor: For polychlorinated biphenyls toxicity. *Biosens Bioelectron*, 31, 548 – 53.
- Jacquioud, S., Demanèche, S., Franqueville, L., Ausec, L., Xu, Z., Delmont, T. O., ... Simonet, P. (2014). Characterization of new bacterial catabolic genes and mobile genetic elements by high throughput genetic screening of a soil metagenomic library. *J. Biotechnol.*, 190, 18–29. doi: 10.1016/j.jbiotec.2014.03.036.
- James, C. (2000). Global review of commercialized transgenic crops: 2000. ISAAA Brief No. 10. Ithaca, NY: ISAAA.
- James, C. (2008). Global status of commercialized biotech/GMcrops: 2007. ISAAA Brief 37 — 2008, International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications (ISAAA).
- Janssen, D.B., Stucki, G. (2020). Perspectives of genetically engineered microbes for groundwater bioremediation. *Environ. Sci. Process. Impacts* 22, 487–499. doi: 10.1039/c9em00601j.
- Jenko, J., Gorjanc, G., Cleveland, M.A., Varshney, R.K., Whitelaw, C.B.A., Woolliams, J.A., ... Hickey, J.M. (2015). Potential of promotion of alleles by genome editing to improve quantitative traits in livestock breeding programs. *Genetics Selection Evolution*, 47(1), 55.
- Jiang, D., Chen, J., Fan, Z., Tan, D., Zhao, J., Shi, H., ... Wang, D. (2017). CRISPR/Cas9-induced disruption of wt1a and wt1b reveals their different roles in kidney and gonad development in Nile tilapia. *Developmental biology*, 428, 63–73.
- Jiang, D.N., Yang, H.H., Li, M.H., Shi, H.J., Zang, X.B. & Wang, D.S. (2016). Gsdg is a downstream gene of dmrt1 that functions in the male sex determination pathway of the Nile tilapia. *Molecular reproduction and development*, 83, 497–508.
- Jiang, Y.L., Gao, X.Y., Liu, S.K., Zhang, Y., Liu, H., Sun, F.Y., ... Liu, Z. (2013). Whole genome comparative analysis of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) with four model fish species. *BMC Genomics*, 14, 780.
- Johnson, S.C. & Albright, L.J. (1992). Comparative susceptibility and histopathology of the response of naive Atlantic, chinook and Coho salmon to experimental infection with *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Diseases of Aquatic Organisms*, 14(3), 179–193
- Johnsson, M., Gaynor, R.C., Jenko, J., Gorjanc, G., de Koning, D. & Hickey, J.M. (2019). Removal of alleles by genome editing (RAGE) against deleterious load. *Genetics Selection Evolution*, 51, 14.

- Jones, S.R.M., Fast, M.D., Johnson, S.C. & Groman, D.B. (2007). Differential rejection of salmon lice by pink and chum salmon: disease consequences and expression of proinflammatory genes. *Diseases of Aquatic Organisms*, 75, 229–238.
- Khalil, K., Elayat, M., Khalifa, E., Daghash, S., Elasad, A., Miller, M., ... Dunham, R. (2017). Generation of myostatin gene-edited channel catfish (*Ictalurus punctatus*) via zygote injection of CRISPR/Cas9 system. *Scientific Report*, 7, 7301.
- Kim, K-H., Park, H-J., Kim, J.H., Kim, S., Williams, D.R., Kim, M-K., ... Choi, S-Y. (2013). Cyp1a reporter zebrafish reveals target tissues for dioxin. *Aquat Toxicol*, 134 – 135, 57 – 65.
- Kishimoto, K., Washio, Y., Yoshiura, Y., Todoya, A., Ureno, T., Fukuyama, H., ... Kinoshita, M. (2018). Production of a breed of red sea bream *Pagrus major* with an increase of skeletal muscle mass and reduced body length by genome editing with CRISPR/Cas9. *Aquaculture*, 495, 415–427.
- Knight, J. (2003). GloFish casts light on murky policing of transgenic animals. *Nature*, 426, 1-372.
- Krimpenfort, P., Rademakers, A., Eyestone, W., Van Der Schans, A., Van Den Broek, S., Kooiman, P., ... Strijker, R. (1991). Generation of transgenic dairy cattle using in vitro embryo production. *Biotechnology*, 9, 844-7.
- Kumar, A., Bisht, B. S., Joshi, V. D., Dhewa, T. (2011). Review on bioremediation of polluted environment: a management tool. *Int. J. Environ. Sci.* 1:1079.
- Kumar, N. M., Muthukumar, C., Sharmila, G., Gurunathan, B. (2018). “Genetically modified organisms and its impact on the enhancement of bioremediation,” in *Bioremediation: Applications for Environmental Protection and Management*, eds S. J. Varjani, A. K. Agarwal, E. Gnansounou, and B. Gurunathan (Singapore: Springer), 53–76.
- Kumar, P.S. (2019). “Soil bioremediation techniques,” in *Advanced Treatment Techniques for Industrial Wastewater*, eds H. Athar, and A. Sirajuddin (IGI Global), 35–50.
- Kumar, V., Dangi, A. K., Shukla, P. (2018). Engineering thermostable microbial xylanases toward its industrial applications. *Mol. Biotechnol.*, 60, 226–235. doi:10.1007/s12033-018-0059-6.
- Lawson, N.D., Weinstein, B.M. (2002). In vivo imaging of embryonic vascular development using transgenic zebrafish. *Developmental biology*, 248, 307 – 18.
- Ledford, H. (2017). Geneticists Enlist Engineered Virus and CRISPR to Battle Citrus Disease. *Nature News*, 545, 7654. 277, doi: 10.1038/545277a.
- Lee, O., Green, J.M. & Tyler, C.R. (2015). Transgenic fish systems and their application in ecotoxicology. *Critical Reviews in Toxicology*, 45(2), 124-41.
- Lee, O., Takesono, A., Tada, M., Tyler, C.R., Kudoh, T. (2012). Biosensor zebrafish provide new insights into potential health effects of environmental estrogens. *Environ Health Perspect*, 120, 990 – 6.
- Legler, J., Broekhof, J.L.M., Brouwer, A., Lanser, P.H., Murk, A.J., Van Der Saag, P.T., ... van der Burg, B. (2000). A novel in vivo bioassay for (xeno-)estrogens using transgenic zebrafish. *Environ Sci Technol*, 34, 4439 – 44.

- Li, M.H., Feng, R., Ma, R., Dong, R., Liu, Z., Jiang, W., ... Wang, D. (2016). Retinoic acid triggers meiosis initiation via *stra8*-dependent pathway in Southern catfish, *Silurus meridionalis*. *General and comparative endocrinology*, 232, 191–198.
- Li, M.H., Sun, Y., Zhao, J., Shi, H., Zeng, S., Ye, K., ... Wang, D. (2015). A tandem duplicate of anti-Müllerian hormone with a missense SNP on the Y chromosome is essential for male sex determination in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *PLoS Genetics*, 11, 1–23.
- Li, M.H., Yang, H., Zhao, J., Fang, L., Shi, H., Li, M., ... Wang, D. (2014). Efficient and heritable gene targeting in tilapia by CRISPR/Cas9. *Genetics*, 197, 591–599.
- Lien, S., Koop, B.F., Sandve, S.R., Miller, J.R., Kent, M.P., Nome, T., ... Davidson, W.S. (2016). The Atlantic salmon genome provides insights into rediploidization. *Nature*, 533, 200–205.
- Liu, C., Zhai, S., Zhang, Q., Liu, B. (2013). Immunochromatography detection of human lactoferrin protein in milk from transgenic cattle. *J AOAC Int*, 96, 116–20.
- Liu, Z., Liu, S., Yao, J., Bao, L., Zhang, J., Li, Y., ... Waldbieser, G.C. (2016). The channel catfish genome sequence provides insights into the evolution of scale formation in teleosts. *Nature Communications*, 7, 11757.
- Löfstedt R.E., Fischhoff B. & Fischhoff I.R. 2002. General Definitions and Specific Applications to Genetically Modified Organisms. *Journal of Policy Analysis and Management*, 21: 381-407. DOI: 10.1002/pam. 10.
- Löfstedt, R., Fischhoff, B. & Fischhoff, I. (2002). Precautionary Principles: General Definitions and Specific Applications to Genetically Modified Organisms. *Journal of Policy Analysis and Management*, 21(3), 381-407.
- Lu, S. & Hodgkiss, I.J. (2004). Harmful algal bloom causative collected from Hong Kong waters, in: P. AngJr. (Ed.), *Asian Pacific Phycology in the 21st Century: Prospects and Challenges*, Springer Netherlands, 231–238 pp.
- Ma, J., Fan, Y., Zhou, Y., Liu, W., Jiang, N., Zhang, J., ... Zeng, L. (2018). Efficient resistance to grass carp reovirus infection in JAM-A knockout cells using CRISPR/Cas9. *Fish & Shellfish Immunology*, 76, 206–215.
- Malla, M. A., Dubey, A., Yadav, S., Kumar, A., Hashem, A., Abd_Allah, E. F. (2018). Understanding and designing the strategies for the microbe-mediated remediation of environmental contaminants using omics approaches. *Front. Microbiol.*, 9:1132. doi: 10.3389/fmicb.2018.01132.
- Mattingly, C.J., McLachlan, J.A., Toscano, W.A Jr. (2001). Green fluorescent protein (GFP) as a marker of aryl hydrocarbon receptor (AhR) function in developing zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Health Perspect*, 109, 845 – 9.
- Mohapatra, B., Kazy, S. K., Sar, P. (2019). Comparative genome analysis of arsenic reducing, hydrocarbon metabolizing groundwater bacterium *Achromobacter* sp. KAs 3-5T explains its competitive edge for survival in aquifer environment. *Genomics*, 111, 1604–1619. doi: 10.1016/j.ygeno.2018.11.004.

- Nagel, R. (2002). DarT: The embryo test with the Zebrafish *Danio rerio* – a general model in ecotoxicology and toxicology. *Altox*, 19, 38– 48.
- Nakamura, Y., Mori, K., Saitoh, K., Oshima, K., Mekuchi, M., Sugaya, T., ... Inouye, K. (2013). Evolutionary changes of multiple visual pigment genes in the complete genome of Pacific bluefin tuna. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, 11061–11066.
- Naruse, K., Hori, H., Shimizu, N., Kohara, Y., Takeda, H. (2004). Medaka genomics: a bridge between mutant phenotype and gene function. *Mech Dev*, 121, 619 – 28.
- Ng, G.H., Gong, Z. (2013). GFP transgenic medaka (*Oryzias latipes*) under the inducible *cyp1a* promoter provide a sensitive and convenient biological indicator for the presence of TCDD and other persistent organic chemicals. *PLoS One*, 8, e64334.
- Nora, L. C., Westmann, C. A., Martins-Santana, L., Alves, L. D. F., Monteiro, L. M. O., Guazzaroni, M. E., ... Silva-Rocha, R. (2019). The art of vector engineering: towards the construction of next-generation genetic tools. *Microb. Biotechnol.*, 12, 125–147. doi: 10.1111/1751-7915.13318.
- Norris, A. (2017). Application of genomics in salmon aquaculture breeding programs by Ashie Norris. *Mar. Genomics*, 36, 13–15.
- OMS. (2020). https://www.who.int/foodsafety/areas_work/food-technology/faq-genetically-modified-food/en/
- Pierce, R.H. & Henry, M.S. (2008). Harmful algal toxins of the Florida red tide (*Karenia brevis*): natural chemical stressors in South Florida coastal ecosystems. *Ecotoxicology*, 17, 623–631.
- Puisseux – Dao, S., Edery, M. (2006). The medaka fish: An experimental model in environmental toxicology its use for the survey of microalgal toxins: phycotoxins and cyanotoxins. In: Arapis, G., Goncharova, N., Baveye, P. Eds. *Ecotoxicology, Ecological Risk Assessment and Multiple Stressors*. The Netherlands: Springer, pp. 227 – 41.
- Qin, Z., Li, Y., Su, B., Cheng, Q., Ye, Z., Perera, D.A., ... Dunham, R.A. (2016). Editing of the luteinizing hormone gene to sterilize Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*, using a modified zinc finger nuclease technology with electroporation. *Marine Biotechnology*. (NY), 18, 255–263.
- Reeves, G. (2019). Gene drive and preliminary thoughts about environmental release. In: Discussion paper focusing on the scientific relevance of genome editing and on the ethical, legal and societal issues potentially involved. ISSUED BY THE ETHICS COUNCIL OF THE MAX PLANCK SOCIETY. *Max Planck Gesellschaft*. 29 pp.
- Ren, Xiaoxia., Hoiczyk, E. & Rasgon, J.L. (2008). Viral Paratransgenesis in the Malaria Vector *Anopheles Gambiae*. *PLOS Pathogens*. 4(8), e1000135, doi:10.1371/journal.ppat.1000135.
- Rondeau, E.B., Minkley, D.R., Leong, J.S., Messmer, A.M., Jantzen, J.R., von Schalburg, K.R., ... Koop, B. F. (2014). The genome and linkage map of the northern pike (*Esox lucius*): conserved synteny revealed between the salmonid sister group and the Neoteleostei. *PLoS One*, 9, e102089.
- Sánchez, A. & Gaeda, J. (2015). Transgenic animals for the production of human proteins. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 30, 7-18.

- Saunders, R.L., Fletcher, G.L. & Hew, C.L. (1998). Smolt development in growth hormone transgenic Atlantic salmon. *Aquaculture*, 168, 177 – 93.
- Scholín, C.A., Gulland, F., Doucette, G.J., Benson, S., Busman, M., Chavez, F.P., ... Van Dolah, F.M. (2000). Mortality of sea lions along the central California coast linked to a toxic diatom bloom. *Nature*, 403, 80–84.
- Servicio Agrícola ganadero. (2019). Métodos disponibles para detección de OGM's. <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/metodos-disponibles-para-deteccion-de-ogms>.
- Shin, S.C., Ahn, D.H., Kim, S.J., Pyo, C.W., Lee, H., Kim, M.K., ... Park, H. (2014). The genome sequence of the Antarctic bullhead notothen reveals evolutionary adaptations to a cold environment. *Genome Biology*, 15, 468.
- Song, G., Han, J. Y. (2011). Avian biomodels for use as pharmaceutical bioreactors and for studying human diseases. *Ann N Y Acad Sci*, 1229,69-75.
- Song, L., Bian, C., Luo, Y., Wang, L., You, X., Li, J., ... Xu, P. (2016). Draft genome of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Giga Science*, 5, 5.
- Star, B., Nederbragt, A.J., Jentoft, S., Grimholt, U., Malmstrøm, M., Gregers, T.F., ... Jakobsen, K.S. (2011). The genome sequence of Atlantic cod reveals a unique immune system. *Nature*, 477, 207–210.
- Takeuchi, T., Kawashima, T., Koyanagi, R., Gyoja, F., Tanaka, M., Ikuta, T., ... Satoh, N. (2012). Draft genome of the pearl oyster *Pinctada fucata*: a platform for understanding bivalve biology. *DNA Research: an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes*, 19, 117–130.
- Thygesen, P. 2019. Clarifying the regulation of genome editing in Australia: situation for genetically modified organisms. *Transgenic Research* 28: 151–159. <https://doi.org/10.1007/s11248-019-00151-4>.
- Tine, M., Kuhl, H., Gagnaire, P.A., Louro, B., Desmarais, E., Martins, R.S.T., ...Reinhardt, R. (2014). European sea bass genome and its variation provide insights into adaptation to euryhalinity and speciation. *Nature Communications*, 5, 5770.
- Tomei, M. C., Daugulis, A. J. (2013). Ex situ bioremediation of contaminated soils: an overview of conventional and innovative technologies. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 43, 2107–2139.
- Tozzini, A.C. (2004). Detección de OGM en la cadena alimentaria. (<http://www.inta.gov.ar/ediciones/2004/biotec/parte9-cap4.pdf>).
- USDA [U.S. Department of Agriculture]. (2000). Acreage. National Agricultural Statistics Service, June 30.
- Uzbekova, S., Chyb, J., Ferriere, F., Bailhache, T., Prunet, P., Alestrom, P., Breton, B. (2000). Transgenic rainbow trout expressed sGnRH-antisense RNA under the control of sGnRH promoter of Atlantic salmon. *Journal of Molecular Endocrinology*, 25, 337 – 50.
- Van Eenennaam, A.L. (2017). Genetic modification of food animals. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 27–34.

- Vázquez-Salat, N., Salter, B., Smets, G., & Houdebine, L. (2012). The current state of GMO governance: Are we ready for GM animals?. *Biotechnology Advances*, 30, 1336- 1343.
- Vick, B.M., Pollak, A., Welsh, C., Liang, J.O. (2012). Learning the scientific method using GloFish. *Zebrafish*, 9, 226-241.
- Vij, S., Kuhl, H., Kuznetsova, I.S., Komissarov, A., Yurchenko, A.A., van Heusden, P., Orbán L. (2016). Chromosome-level assembly of the Asian seabass genome using multi-layered scaffolding of long sequence reads. *PLoS Genetics*, 12, e1005954.
- Wall, R., Pursel, V., Shamay, A., Mcknight, R., Pittius, C., Hennighausen, L. (1991). High-level synthesis of a heterologous milk protein in the mammary glands of transgenic swine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 88, 1696-700.
- Wang, R., Zhang, P., Gong, Z. & Hew, C.L. (1995). Expression of the antifreeze protein gene in transgenic goldfish (*Carassius auratus*) and its implication in cold adaptation. *Molecular marine biology and biotechnology*, 4, 20 – 6.
- Wang, Y., Zhao, S., Bai, L., Fan, J., Liu, E. (2013). Expression systems and species used for transgenic animal bioreactors. *Biomed Res Int*, 2013, 580463.
- Wang, Y.P., Lu, Y., Zhang, Y., Ning, Z.M., Li, Y., Zhao, Q., ... Zhu, Z. (2015). The draft genome of the grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) provides insights into its evolution and vegetarian adaptation. *Nature Genetics*, 47, 625–631.
- Wanner B., Monconduit H., Mertens A. & Thomaier J. 2019. CJEU renders decision on the interpretation of the GMO Directive. *Journal of Intellectual Property Law & Practice* 14: 90-92. doi:10.1093/jiplp/jpy184
- Wargelius, A., Leininger, S., Skaftnesmo, K.O., Kleppe, L., Andersson, E., Taranger, G.L., ... Edvardsen, R.B. (2016). Dnd knockout ablates germ cells and demonstrates germ cell independent sex differentiation in Atlantic salmon. *Scientific reports*, 6, 21284.
- Williams, D. (2003). Sows' ears, silk purses and goats' milk: new production methods and medical applications for silk. *Med Device Technol*, 14, 9-11.
- Wright, G., Carver, A., Cottom, D., Reeves, D., Scott, A., Simons, P., ... Colman, A. (1991). High level expression of active human alpha-1- antitrypsin in the milk of transgenic sheep. *Biotechnology*, 9, 830-4.
- Wu, C.W., Zhang, D., Kan, M.Y., Lv, Z.M., Zhu, A.Y., Su, Y.Q., ... Liu, Y. (2014). The draft genome of the large yellow croaker reveals well-developed innate immunity. *Nature Communications*, 5, 5227.
- Xiao, S.J., Han, Z.F., Wang, P.P., Han, F., Liu, Y., Li, J.T., ... Wang, Z.Y. (2015). Functional marker detection and analysis on a comprehensive transcriptome of large yellow croaker by next generation sequencing. *PLoS One*, 10, e0124432.
- Xie, Q.P., He, X., Sui, Y.N., Chen, L.L., Sun, L.N. & Wang, D.S. (2016) Haploinsufficiency of SF-1 causes female to male sex reversal in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Endocrinology*, 157, 2500–2514.

- Xu, P., Zhang, X.F., Wang, X.M., Li, J.T., Liu, G.M., Kuang, Y.Y., ... Sun, X. (2014). Genome sequence and genetic diversity of the common carp, *Cyprinus carpio*. *Nature Genetics*, 46, 1212–1219.
- Xu, T., Xu, G., Che, R., Wang, R., Wang, Y., Li, J., ... Yang, Q. (2016). The genome of the miiuy croaker reveals well-developed innate immune and sensory systems. *Scientific Reports*, 6, 21902.
- Yazawa, R., Hirono, I., Aoki, T. (2005). Characterization of promoter activities of four different Japanese flounder promoters in transgenic zebrafish. *Marine Biotechnology* (New York), 7, 625–633.
- Yu, G.H. & Wang, L. (2017). Current status of genome sequencing and its applications in aquaculture. *Aquaculture*, 468, 337–347.
- Yu, H., Li, H., Li, Q., Xu, R., Yue, C. & Du, S. (2019) Targeted gene disruption in Pacific oyster based on CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes. *Marine Biotechnology*, 23, 494–502.
- Zenger, K.R., Khatkar, M.S., Jones, D.B., Khalil Samani, N., Jerry, D.R. & Raadsma, H.W. (2018). Genomic selection in aquaculture: application, limitations and opportunities with special reference to marine shrimp and pearl oysters. *Frontiers in Genetics*, 9, 693.
- Zhang, G.F., Fang, X.D., Guo, X.M., Li, L., Luo, R.B., Xu, F., ... Wang, J. (2012). The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature*, 490, 49–54.
- Zhang, X., Wang, H., Li, M., Cheng, Y., Jiang, D., Sun, L., ... Wang, D. (2014). Isolation of Doublesex- and Mab-3-related transcription factor 6 and its involvement in spermatogenesis in tilapia. *Biology of Reproduction*, 91, 1–10.
- Zhong, Q.W. & Fan, T.J. (2002). Advances in fish antifreeze protein research. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu li Xue Bao*, 34(2), 124–130.
- Zhong, Z., Niu, P., Wang, M., Huang, G., Xu, S., Sun, Y., ... Wang, H. (2016) Targeted disruption of sp7 and myostatin with CRISPR-Cas9 results in severe bone defects and more muscular cells in common carp. *Scientific Reports*, 6, 1–14.
- Zu, Y., Zhang, X., Ren, J., Dong, X., Zhu, Z., Jia, L., ... Li, W. (2016) Biallelic editing of a lamprey genome using the CRISPR/Cas9 system. *Scientific Reports*, 6, 1–9.
- Zuo, Z., Gong, T., Che, Y., Liu, R., Xu, P., Jiang, H., ... Yang, C. (2015). Engineering *Pseudomonas putida* KT2440 for simultaneous degradation of organophosphates and pyrethroids and its application in bioremediation of soil. *Biodegradation*, 26(3), 223–33. doi: 10.1007/s10532-015-9729-2.

Objetivo 4.3 Realizar un análisis de la experiencia internacional respecto de la investigación científica, uso y producción de Organismos Genéticamente Modificados con énfasis en la acuicultura

Identificación de experiencia internacional y nacional

El “Código de Conducta para la Pesca Responsable de la FAO” contiene varios artículos que tratan sobre la aplicación metodológica de mejoramiento genético en la acuicultura. Estos artículos hacen referencia a los riesgos acuícolas relacionados con el desarrollo y propagación de las poblaciones alteradas genéticamente y a la integridad ambiental de los ecosistemas naturales.

El artículo 9 del mencionado código corresponde al Desarrollo de la Acuicultura, y el artículo 9.1 considera el desarrollo responsable de la acuicultura basada en el cultivo de recursos acuáticos vivos en zonas sometidas a jurisdicción nacional de cada país. En este último artículo, se indica que los Estados miembros deberían:

- i) Establecer, mantener y desarrollar un marco jurídico y administrativo adecuado que facilite el desarrollo de una acuicultura responsable.
- ii) Promover el desarrollo y la ordenación y administración responsable de la acuicultura incluyendo una evaluación previa de los posibles efectos del desarrollo de la acuicultura sobre la diversidad genética y la integridad del ecosistema, basada en la información científica más fidedigna.
- iii) Formular y actualizar regularmente planes y estrategias para el desarrollo de la acuicultura, según proceda, para asegurar que el desarrollo de la acuicultura sea ecológicamente sostenible y permitir el uso racional de los recursos compartidos por ésta y otras actividades.
- iv) Velar que el desarrollo de la acuicultura no perjudique al sustento de las comunidades locales, ni dificulte su acceso a las zonas de pesca.
- v) Establecer procedimientos efectivos específicos a la acuicultura para realizar una evaluación y un seguimiento apropiados del medio ambiente con el fin de reducir al mínimo los cambios ecológicos perjudiciales y las correspondientes consecuencias económicas y sociales derivadas de la extracción de agua, la utilización de la tierra, la

evacuación de efluentes, el empleo de medicamentos y sustancias químicas y otras actividades acuícolas.

Por otra parte, el artículo 9.3 se relaciona con la utilización de los recursos genéticos acuáticos para fines de acuicultura, incluida la pesca basada en el cultivo de recursos vivos acuáticos. En este contexto, los Estados miembros deberían:

- i) Conservar la diversidad genética y mantener la integridad de las comunidades y ecosistemas acuáticos mediante una ordenación adecuada. En particular, deberían tomarse medidas para reducir al mínimo los efectos perjudiciales de la introducción de especies no nativas o poblaciones alteradas genéticamente utilizadas en la acuicultura, incluida la pesca basada en el cultivo, especialmente en aguas donde haya posibilidades significativas de que esas especies no nativas o poblaciones alteradas genéticamente, se propaguen a aguas sometidas tanto a la jurisdicción del Estado de origen como a la de otros Estados. Los Estados deberían fomentar, cuando sea posible, la adopción de medidas destinadas a reducir al mínimo los efectos genéticos negativos que los peces cultivados que se escapan pueden producir en las poblaciones silvestres: genéticos, enfermedades, etc.
- ii) Cooperar en la elaboración, adopción y aplicación de códigos internacionales de prácticas y procedimientos para la introducción y transferencia de organismos acuáticos.
- iii) Con el fin de reducir al mínimo los riesgos de transmisión de enfermedades y otros efectos negativos para las poblaciones silvestres y cultivadas, los estados deberían alentar la adopción de prácticas adecuadas en el mejoramiento genético de los reproductores, la introducción de especies no nativas y la producción, venta y transporte de huevos, larvas o crías, reproductores u otros materiales vivos. Así, estos deberían facilitar la preparación y aplicación de los códigos nacionales de prácticas y procedimientos apropiados a tal efecto.
- iv) Promover la utilización de procedimientos adecuados para la selección de reproductores y la producción de huevos, larvas y crías.
- v) Cuando proceda, los Estados, deberían promover la investigación y, cuando sea viable, el desarrollo de técnicas de cultivo adecuadas para las especies en peligro a fin

de proteger, rehabilitar y aumentar sus poblaciones, teniendo en cuenta la imperiosa necesidad de conservar la diversidad genética de las especies en peligro.

En el ámbito de lo indicado en el Art. 9 del “Código de Conducta para la Pesca Responsable de la FAO”, se puede tomar en cuenta la aplicación de metodologías de la biología celular y molecular para realizar mejoras en calidad y producción en especies de cultivo; por ejemplo, marcadores genéticos de rasgos cuantitativos para especies como el ostión del Pacífico, salmónidos, pez gato del canal, tilapia del Nilo y la lubina, entre otros. Con la aplicación de estas metodologías se han logrado identificar un número de rasgos para características importantes en peces como la tolerancia a las temperaturas, tasas de crecimientos somáticos y resistencia a las enfermedades. Actualmente, diferentes países con interés en el desarrollo de la acuicultura se encuentran desarrollando investigación y experimentación en organismos genéticamente modificados (OGMs).

En base a la frecuencia de referencias científicas por área de aplicación que resultó de la investigación de este proyecto (Figura 29), se indican a continuación los países por nivel de importancia en dicha materia y por sus antecedentes de estadísticas acuícolas obtenidas de los archivos consultados de FAO y otras entidades relacionadas con la pesca.

1. ESTADOS UNIDOS

Peces

En Estados Unidos, la producción acuícola ha estado representada principalmente por especies de agua dulce y marina (Figura 35). Dentro de las especies de agua dulce y anádromas encontramos al bagre de canal (*Ictalurus punctatus*), la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), rayado híbrido (*Morone saxatilis* x *M. chrysops*), tilapia (*Oreochromis niloticus*), perca amarilla americana (*Perca flavescens*), la trucha alpina (*Salvelinus alpinus*), el barramundi (*Lates calcarifer*) y la lobina negra (*Micropterus salmoides*). Por otro lado, dentro de los peces marinos encontramos al salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y el esturión blanco (*Acipenser transmontanus*).

Actualmente, se puede identificar las diferentes especies de peces que se encuentran en la fase de investigación y desarrollo con fines de acuicultura, dentro de las cuales encontramos al dorado (*Seriola lalandi*), la corvina roja (*Sciaenops ocellatus*), el pez sable (*Anoplopoma fimbria*), lenguado

californiano (*Paralichthys californicus*), lenguado de verano (*Paralichthys dentatus*), atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y pompano amarillo (*Trachinotus carolinus*).

Invertebrados

Entre los moluscos que tienen importancia en la industria acuícola de Estados Unidos podemos encontrar a las ostras japonesa y americana (*Crassostrea gigas* y *Crassostrea virginica*, respectivamente), las almejas americanas y de Manila (*Mercenaria mercenaria* y *Venerupis philippinarum*, respectivamente) y el mejillón azul (*Mytilus edulis*). En el caso de crustáceos cultivados en Estados Unidos, se incluyen el cangrejo rojo del pantano (*Procambarus clarkii*) y el camarón de patas blancas (*Penaeus vannamei*).

Modificaciones genéticas en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

En Estados Unidos, las especies que han sido el foco de los programas de selección genética para mejorar los rasgos de producción (e.g. crecimiento somático, rendimiento en carne y resistencia a las enfermedades) son el salmón del Atlántico, el bagre de canal, la trucha arcoíris, las ostras japonesa y americana. De las especies anteriores, solamente el salmón AquaAdvantage®Salmon (*Salmo salar*) ha sido modificado genéticamente y cuenta con la autorización de la FDA para entrar en etapa de comercialización para el consumo humano (Salmonexpert, 2019). Mientras que el GloFish®, el pez zebra (*Danio rerio*) ha sido modificado genéticamente, y es cultivado y comercializado con fines ornamentales y de investigación (Scotto & Chuan, 2018; Vick *et al.*, 2012).

Mención especial se debe hacer sobre el salmón transgénico AquaAdvantage®Salmon que fue diseñado y generado por vez primera en el año 1989 y los primeros resultados científicos se publicaron recién en 1992. La empresa AquaBounty solicitó su autorización para su comercialización y consumo humano a la FDA por vez primera en 1995, hace 20 años.

La característica diferencial del salmón AquaAdvantage es que incorpora un transgén que expresa el gen de la hormona de crecimiento del salmón Chinook del Pacífico (*Oncorhynchus tshawytscha*), bajo el control del promotor y las zonas reguladoras del gen de la proteína anti-congelante de un pez anguila bentónico (*Zoarces americanus*) que vive en el Atlántico Norte. Por lo tanto, se trata de una construcción génica enteramente derivada de secuencias de ADN de peces; y, el transgén permite la expresión del nuevo gen de la hormona de crecimiento en los meses fríos, de otoño e invierno, cuando se activa el gen de la proteína anti-congelante de forma natural. Gracias a esta

innovación biotecnológica, el salmón *AquAdvantage* consigue mantener su crecimiento durante todo el año, debido a su hormona de crecimiento endógena en los meses primaverales y estivales, y debido a la hormona de crecimiento del transgén, en los meses otoñales e invernales. El resultado concreto de estas innovaciones biotecnológicas es que el salmón *AquAdvantage* crece mucho más rápido que el salmón natural, llegando al mismo tamaño comercial en unos 18 meses; siendo además uno de los productos biotecnológicos más eficientes en la conversión energética (1 kilogramo de comida se convierte aproximadamente en 1 kilogramo de salmón *AquAdvantage*), consumiendo adicionalmente un 25% menos de pescado que sus congéneres naturales

Aquaculture production by culture environment the United States of America (tonnes)
Source: FAO FishStat

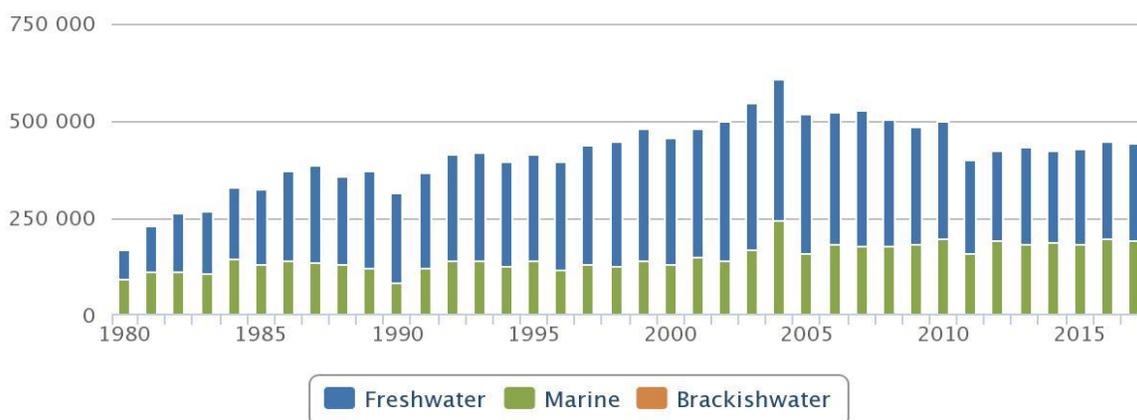


Figura 35. Producción acuícola de Estados Unidos para diferentes ambientes acuáticos.

2. CHINA

Aunque China tiene una larga historia en acuicultura, no fue sino hasta su apertura al mercado global en la década del 80' donde se comenzó a registrar la producción acuícola de este país. El sector acuícola ha crecido notablemente, siendo uno de los países que presentan mayor crecimiento en las industrias agropecuarias del mundo (Rosales & Acevedo, 2012; Aqua 2019). En China, la producción acuícola ha estado representada principalmente por especies de agua dulce y marina (Figura 36).

Peces

Actualmente, se cultivan aproximadamente 50 especies de interés comercial, siendo las más comunes la carpa (*Cyprinus carpio*), la brema china (*Megalobrama amblycephala*) y la brema de nariz chata. Desde los años 80s, con el incremento de la demanda tanto del mercado doméstico como del internacional, varias son las especies que se han desarrollado o se han introducido desde el exterior para el cultivo comercial en China, tal como las anguilas japonesa y americana (*Anguilla japonica* y *A. anguilla*, respectivamente), la perca China (*Siniperca chuatsi*), el esturión común (*Acipenser sturio*), pez cabeza de serpiente (*Channa argus*), tilapia (*Oreochromis niloticus*), trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), loach (*Misgurnus anguillicaudatus*), pez remo (*Regalecus glesne*), bagre (*Ictalurus punctatus*), el sargo (*Pagrosomus* spp), el sabalote (*Chanos chanos*), la perca de mar (*Lates niloticus*), el lenguado japonés (*Paralichthys olivaceus*), la lisa (*Mugil cephalus*), el verrugato de Manchuria (*Larimichthys polyactis*), la lubina (*Dicentrarchus labrax*), la perca (*Perca schrenkii*), el rodoballo (*Psetta maxima*) y el pez rojo (*Centroberyx affinis*).

Invertebrados

Dentro de los moluscos que tienen importancia comercial, se puede encontrar: el ostión (*Chlamys livida*), el abalón (*Haliotis discus hannai*), la almeja de Manila (*Venerupis philippinarum*) y el arca del Pacífico occidental (*Anadara granosa*). En el caso de Crustáceos, están los camarones del género *Penaeus* que han tenido una actividad exitosa en el cultivo. Específicamente, en el género *Penaeus* las especies son: *P. chinensis*, *P. japonicus*, *P. monodon*, *P. vannamei*, *P. merguensis*, *P. penicillatus*, y por otro lado la especie *Metapenaeus ensis*.

Modificaciones genéticas de organismos hidrobiológicos de interés acuícola

China lidera en investigación de modificación genética con fines de acuicultura, trabajando principalmente en los grupos de las algas, moluscos, peces con aplicaciones principalmente de tipo experimental. Por ejemplo, el Pez cebra (Zhu 2017); Tilapia (Li 2014); el pez de arroz (*Oryzias sinensis*) (Guan 2014); la microalga *Dunaliella salina* (Sun *et al.* 2006); *Chlorella vulgaris* (Chow & Tung 1999). En acuicultura de moluscos, Huang *et al* (2019) ha trabajado con el abalón, *Haliotis discus hannai*.

Produccion de acuicultura por medio de cultivo la República Popular China
Fuente: FAO FishStat

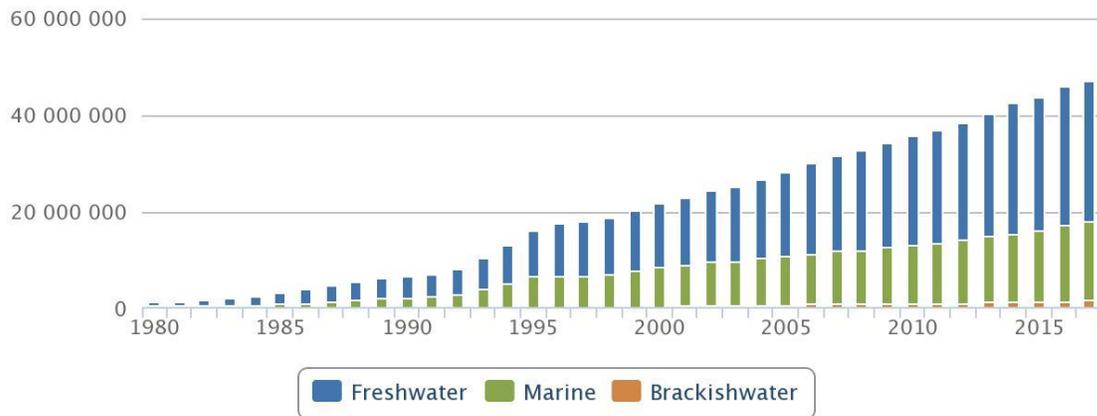


Figura 36. Producción acuícola de China para diferentes ambientes acuáticos

3. INDIA.

En India la producción acuícola ha estado representada principalmente por especies de agua dulce y en menor medida por organismos de agua salobre (Figura 37). Si bien las especies de carpas corresponden a las especies más importantes cultivadas en agua dulce en India, es el sector del camarón de agua salobre el que contribuye el grueso de la producción.

Peces

Dentro de las especies de agua dulce encontramos a diferentes tipos de carpas, la catla (*Catla catla*), el rohu (*Labeo rohita*), el mrigal (*Cirrhinus mrigala*), la carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), la carpa china (*Ctenopharyngodon idellus*), carpa común (*Cyprinus carpio*). Por otro lado, también son cultivados diferentes tipos de peces gatos, el pez gato andador (*Clarias batrachus*), el Pangas (*Pangasius pangasius*), pez gato wallago (*Wallago attu*), pez gato grande de río (*Sperata seenghala*) y finalmente las tilapias (*Oreochromis mossambicus* y *Oreochromis niloticus*).

Invertebrados

Los moluscos que tienen importancia comercial, aunque menos cultivados que los crustáceos, son el mejillón verde (*Perna viridis*), el mejillón café indio (*Perna indica*), la ostra india de remansos

(*Crassostrea madrasensis*), la ostra perlera japonesa (*Pinctada fucata*) (FAO, 2009). El caso de los camarones, que hacen el grueso de la producción del país encontramos al camarón (*Litopenaeus vannamei*), el langostino jumbo (*Penaeus monodon*), el langostino blanco de la India (*P. indicus*), langostino de Malasia (*Macrobrachium rosenbergii*) y el camarón monzón (*M. malcolmsonii*).

Modificaciones genéticas en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

India se ha esforzado por desarrollar los rasgos positivos o útiles para el cultivo de diferentes especies, lo que ha llevado a producir un gran número de híbridos, entrecruzando las principales carpas cultivadas en India entre sí, como las carpas chinas y por último, las carpas chinas entre sí. Sin embargo, no se ha podido establecer ventajas significativas de estos híbridos.

Los programas de reproducción selectiva en el rohu (*Labeo rohita*), basados en los métodos combinados de selección recogidos por ICAAD en Bhubaneswar en colaboración con AKVAFORSK de Noruega, han conducido a la producción de una cepa genéticamente mejorada (conocida como *Jayanti*) la cual ha mostrado tasas de crecimiento sobre 50 % más altas en tres generaciones. Esta cepa mejorada ha estado disponible ya en diferentes partes del país (Aquahoy, 2007). A la fecha, estudios experimentales en transgénicos se han llevado a cabo en el pez Medaka (*Oryzias latipes*) y en pez cebra (Barman, 2017); y en algas (Kathiresan *et al.* 2009).

Producción de acuicultura por medio de cultivo la República de la India
Fuente: FAO FishStat

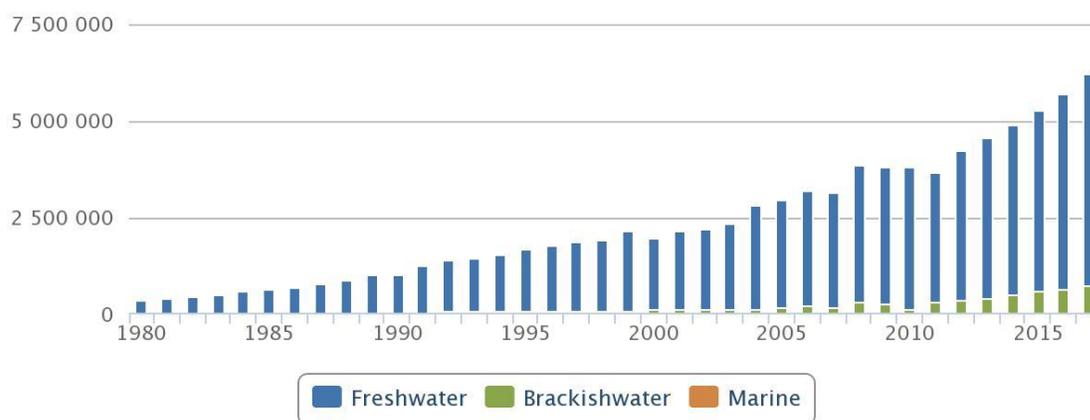


Figura 37. Producción acuícola de India para diferentes ambientes acuáticos

4. EGIPTO

La acuicultura es la mayor fuente de suministro de pescado en Egipto, representando más del 50% de la producción total de pescado del país, de la cual el 98% se produce en granjas particulares. Comparativamente, la acuicultura marina en Egipto está lejos aún de ser tan exitosa como la de agua dulce (Figura 38).

Peces

Dentro de las diferentes especies de peces en cultivos se encuentra la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), tilapia azul (*Oreochromis aureus*), bagre del Norte de Africa (*Clarias gariepinus*), la lisa gris (*Mugil cephalus*), la morrugata (*Liza ramada*), la lisa de mancha azul (*Valamugil sebeli*), la lubina (*Dicentrarchus labrax*), la dorada (*Sparus aurata*), la corvina (*Argyrosomus regius*), la carpa común (*Cyprinus carpio*), la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idellus*), la carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), la carpa cabezona (*Hypophthalmichthys nobilis*), y la carpa negra (*Mylopharyngodon piceus*).

Invertebrados

Sólo dos especies de invertebrados tienen importancia acuícola, los cuales son el camarón peneido (*Peneaus vannamei*) y el langostino de Malasia (*Macrobrachium rosenbergii*).

Modificación genética en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

En la investigación de organismos genéticamente modificados, Egipto ha trabajado sólo en microalgas del género *Chrorella* (El-Sheek, 1999).

Producción de acuicultura por medio de cultivo la República Árabe de Egipto
Fuente: FAO FishStat

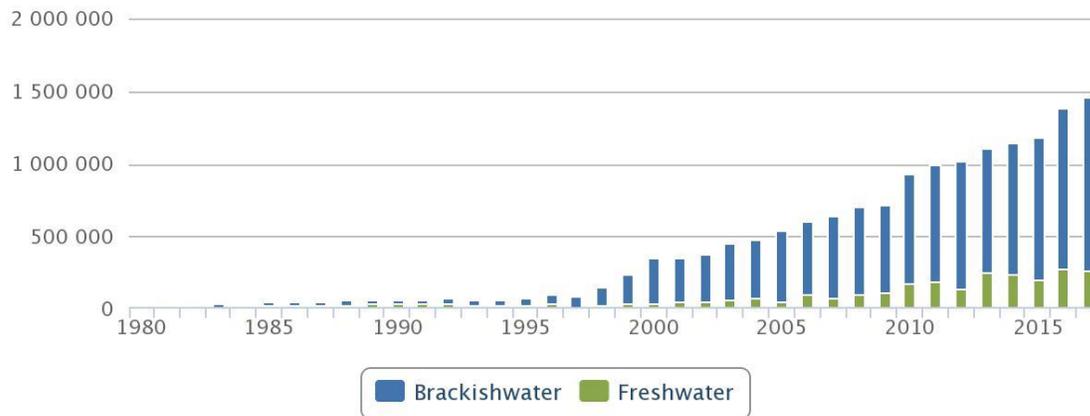


Figura 38. Producción acuícola de Egipto para diferentes ambientes acuáticos

5. JAPON

En Japón la producción acuícola ha estado representada principalmente por especies marinas, seguida de agua dulce (Figura 39).

Peces

Dentro de las especies de peces cultivadas en Japón encontramos al pez medregal japonés (*Seriola quinqueradiata*), el pez limón (*Seriola dumerilii*), el pargo rojo (*Pagrus major*), el halibut (*Paralichthys olivaceus*), jurel japonés (*Trachurus japonicus*), jurel blanco (*Pseudocaranx dentex*) y torafugu (*Fugu rubripis*), atún rojo del Atlántico (*Thunnus thynnus*), anguila japonesa (*Anguilla japonica*), el ayu (*Plecoglossus altivelis*), la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), la carpa común (*Cyprinus carpio*) y la carpa ornamental o carpa koi (*Cyprinus carpio koi*).

Invertebrados

Entre los moluscos utilizados en acuicultura costera Japón están la viera japonesa (*Patinopecten yessoensis*), ostra japonesa, *Crassostrea gigas* y *Crassostrea nipona*, el abalón (*Haliotis discus*), la almeja (*Ruditapes philippinarum*), y la viera (*Pecten albicans*).

Algas

Entre las algas que se cultivan en el Japón, el alga Nori o laver (*Porphyra* spp. -*Porphyra pseudolinearis* y *P. yezoensis*) y el alga Wakame (*Undaria pinnatifida*) lideran las cifras de producción. También se cultivan el sargazo o laminaria japonesa o kombu (*Laminaria japonica*, *L. angustata*, *L. longissima*, *L. ochotensis*) y la especie *Cladosiphon okamuranus*.

Modificación genética en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

Si bien Japón tiene un importante desarrollo en acuicultura, la investigación experimental en modificación genética se ha realizado en pocas especies, tales como *Oryzias latipes* (Medaka), (Kinoshita, 2004, Taniguchi 2006; Chisadea 2011, Tonoyama 2018); *Oreochromis niloticus*, (Kobayachi 2007) y en pez cebra (*Danio rerio*) (Suster, 2009; Kimura, 2014; Nagao 2018). Adicionalmente, avances en investigación experimental en edición genética se han realizado en la especie *Lymnaea stagnalis* (Abe & Kuroda 2019) pero sin fines para la acuicultura.

Recientemente, la Agencia de Asuntos del Consumidor de Japón (CAA) anunció que los alimentos elaborados con la tecnología de edición del genoma no requieren inspecciones de seguridad, a diferencia de los alimentos genéticamente modificados (OGMs, o transgénicos) que deben pasar por pruebas de toxicidad y carcinogenicidad. Por lo que no es obligatorio el etiquetado ya que no sería diferente de los alimentos no-editados (no hay inserción de genes extraños). Actualmente, se avanza en el estudio del besugo rojo.

<https://www.foodnavigator-asia.com/Article/2019/12/05/Genome-edited-food-products-to-go-on-sale-in-Japan-despite-no-labelling-and-safety-provisions>

Producción de acuicultura por medio de cultivo el Japón
Fuente: FAO FishStat

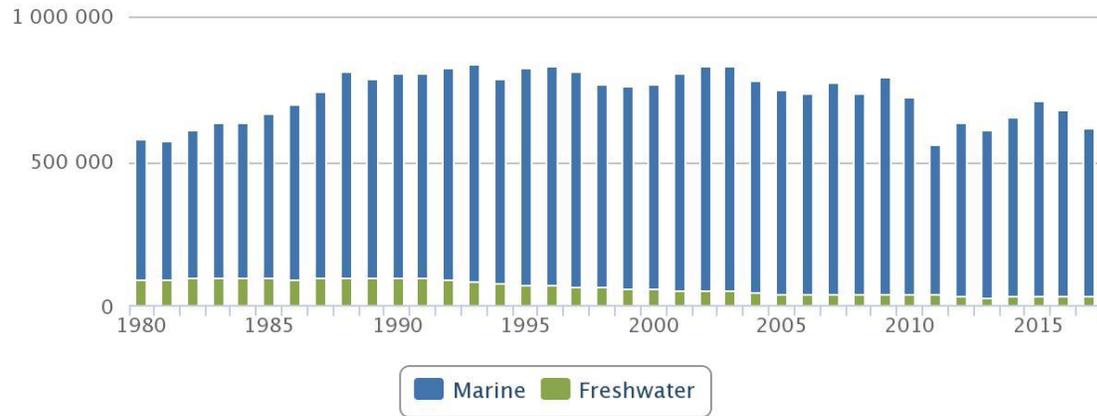


Figura 39. Producción acuícola de Japón para diferentes ambientes acuáticos

6. AUSTRALIA

En Australia, la producción acuícola ha estado representada principalmente por especies marinas, seguida de especies estuarinas y escasa contribución de especies de agua dulce (Figura 40).

Peces

Entre los peces que se cultivan, está el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y el atún aleta azul (*Thunnus maccoyii*) cuyo cultivo se inició a mediados de la década de los 90's cuando se establecieron restricciones a las cuotas de pesca del atún silvestre (AFFA 2002; ABARE 2003).

Invertebrados

Las principales especies de moluscos cultivados en Australia son las ostras *Saccostrea glomerata*, *Crassostrea gigas*, *Ostrea angasi*, *Saccostrea amasa*, y *Saccostrea echinata*. Además, existen y se cultivan varias especies de bivalvos que producen perlas; las principales perlas cultivadas provienen del ostión de labios dorados o plateados (*Pinctada maxima*). En el caso de crustáceos, el camarón (*Penaeus monodon*) es el principal crustáceo cultivado; otros son el

camarón banana (*P. merguensis*), camarón tigre café (*P. esculentus*) y el camarón kuruma (*P. japonicus*) (ABARE, 2003).

Modificaciones genéticas organismos hidrobiológicos de interés acuícola

En materia de investigación genética experimental, Sertori (2016) ha realizado experimentos con el pez zebra (*Danio rerio*); mientras que en *Ictalurus punctatus* y la ostra *Crassostrea gigas*, Threher *et al.* (2009) han realizado investigación en mejoras en sobrevivencia y desarrollo de estas especies para su aplicación experimental en acuicultura.

Producción de acuicultura por medio de cultivo Australia
Fuente: FAO FishStat

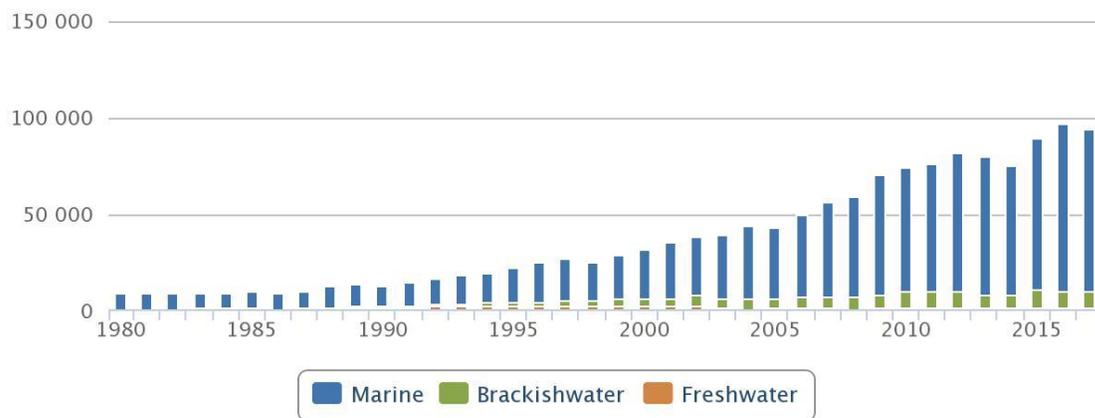


Figura 40. Producción acuícola de Australia para diferentes ambientes acuáticos

7. FRANCIA

En Francia la producción acuícola está representada principalmente por especies marinas, seguida de especies de agua dulce (Figura 41).

Peces

Entre los peces que se cultiva está el rodaballo (*Psetta maxima*), la lubina (*Dicentrarchus labrax*), la dorada (*Sparus aurata*), los cuales dominan el sector de la acuicultura marina, y la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en el ambiente de agua dulce, siendo el tercer productor mundial.

Invertebrados

El cultivo de moluscos se centra principalmente en la producción de la ostra japonesa (*Crassostrea gigas*). El cultivo de camarón (*Penaeus stylirostris*) en Nueva Caledonia fue iniciado en 1981, tras su excelente adaptación al ambiente, alcanzando un alto valor de mercado debido a la calidad de su carne.

Modificaciones genéticas en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

Auer (2014) realizó investigación experimental con CRISPR en el pez zebra (*Danio rerio*), y en la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*); mientras que Chourrout (1986) realizó investigación en etapa experimental con hormona del crecimiento. Por otra parte, Yano (2014) ha realizado investigación en disrupción de la sexualidad asociada al cromosoma Y, para su aplicación productiva. Cadoret *et al.* (1997) trabajaron experimentalmente con la ostra *Crassostrea gigas* en la expresión de luminiscencia; mientras que para la expresión de la B galactosidasa aplicaron biotecnología experimental para *Crassostrea gigas* y el mejillón azul, *Mytilus edulis*.

Producción de acuicultura por medio de cultivo la República Francesa
Fuente: FAO FishStat

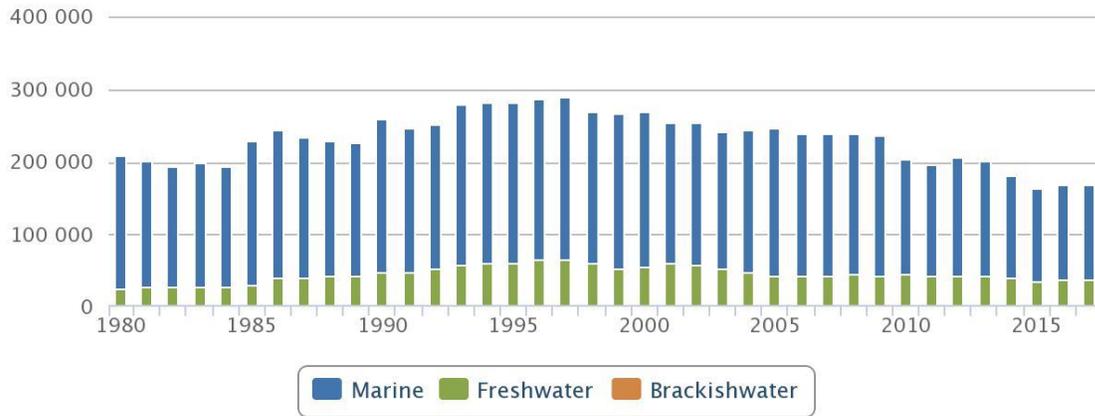


Figura 41. Producción acuícola de Francia para diferentes ambientes acuáticos

8. ISRAEL

En Israel, la mayoría de las especies cultivadas son introducidas, donde la producción acuícola ha estado representada principalmente por especies de agua dulce, seguida de especies de marinas y escasamente de especies de ambientes salobres (Figura 42).

Peces

Dentro de las diferentes especies de peces con importancia acuícola encontramos a la carpa común (*Cyprinus carpio*), la carpa china (*Ctenopharyngodon idellus*), la carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) y la carpa cabezona (*Hypophthalmichthys nobilis*). También, algunos otros como el barramundi (*Lates calcarifer*), el robalo rayado y su híbrido (una cruce entre robalo rayado *Morone saxatilis* y robalo blanco *Morone chrysops*), la corvina roja (*Sciaenops ocellatus*), la tilapia híbrida (*Oreochromis niloticus*), el esturión Kaluga (*Huso dauricus*) y peces de ornato.

Modificaciones genéticas en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

En algas, Lapidot *et al.* (2002) ha realizado investigación experimental para evaluar la resistencia a herbicidas en la especie *Porphyidium* spp.

Producción de acuicultura por medio de cultivo el Estado de Israel
Fuente: FAO FishStat

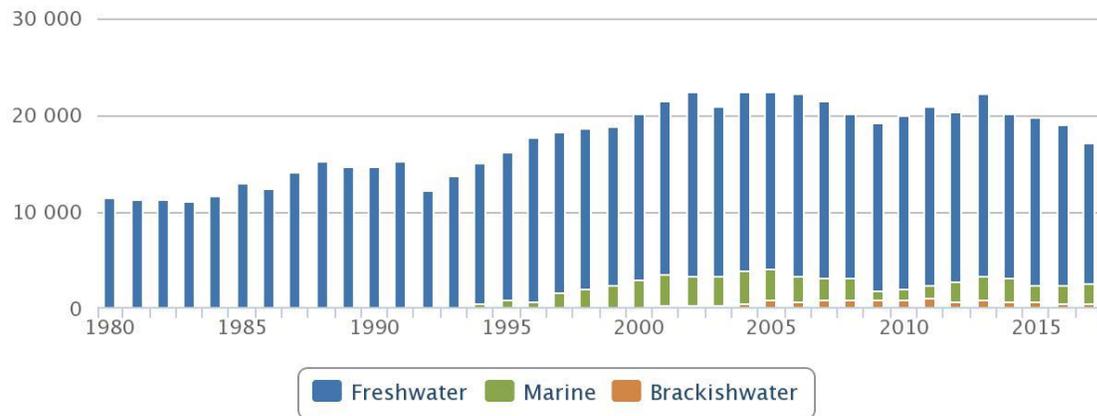


Figura 42. Producción acuícola de Israel para diferentes ambientes acuáticos

9. ITALIA

La producción acuícola en Italia está representada en proporciones similares por especies de agua dulce, marinas y salobres (Figura 43). El “Plan Nacional de Acuicultura Italiano” establece políticas de promoción y comercialización para incrementar la demanda del consumidor y mejores estrategias de distribución para la producción.

Peces

La mayor parte de la producción piscícola está constituida por especies dulceacuícolas, particularmente *Oncorhynchus mykiss*, *Salmo trutta*, *Salmo trutta marmoratus*, bagre y esturión. De entre las especies eurihalinas, las más importantes son la lubina (*Dicentrarchus labrax*), la dorada (*Sparus aurata*), el dentón común (*Dentex dentex*), sargo común (*Diplodus* sp.), el sargo picudo (*Puntazazzo puntazazzo*), la breca (*Pagellus erythrinus*), verrugato fusco (*Umbrina cirrosa*) y la corvina (*Argyrosomus regius*).

Invertebrados

La mayor parte de la producción italiana de moluscos está representada por los mejillones y almejas, tales como el Mejillón mediterráneo (*Mytilus galloprovincialis*), Almeja japonesa o manila (*Ruditapes philippinarum*), y Almeja fina (*Ruditapes decussatus*).

Modificaciones genéticas en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

Falciatore *et al.* (1999) han desarrollado trabajos experimentales en resistencia para herbicidas en el microalga *Phaeodactylum trichorotum* y De Riso *et al.* (2009) en investigación experimental para evaluar su resistencia al antibiótico Fleomicina.

Producción de acuicultura por medio de cultivo la República Italiana
Fuente: FAO FishStat

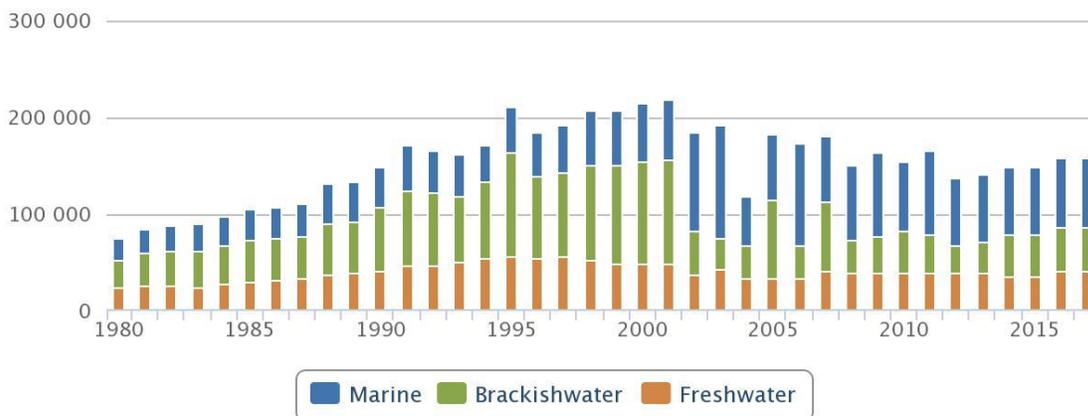


Figura 43. Producción acuícola de Italia para diferentes ambientes acuáticos

10. MEXICO

La producción acuícola en México está representada principalmente por especies de aguas marinas y en menor volumen especies de agua dulce (Figura 44).

Peces

Dentro de las diferentes especies de peces con importancia acuícola encontramos al bagre de canal (*Ictalurus punctatus*), la carpa (*Cyprinus carpio*), Atún (*Thunnus thynnus*), Tilapia (*O. niloticus*),

Trucha Arcoíris y peces de ornato de agua dulce de las familias Cyprinidae, Anabantidae, Belontiidae, Anabantidae, Characidae, Cichlidae, Loricaridae) y Poeciliidae (CNA, 2018).

Además, México tiene acuicultura de fomento con los peces, Catán (*Atractosteus spatula*), Menidia estor, Cobia (*Rachycentron canadum*), Corvina ocelata (*Sciaenops ocellatus*), Pargo rojo (*Lutjanus peru*), Jurel (*Seriola lalandi*), Lengado de California (*Paralichthys californicus*), Pargo aleta negra (*Lutjanus guttatus*) y el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) (CNA 2018).

Invertebrados

En moluscos encontramos al Abalón rojo (*Haliotis rufescens*) y la ostra japonesa (*Crassostrea gigas*). Por otro lado, en crustáceos se cultiva el Camarón blanco del Pacífico (*Litopenaus vanammei*), Langosta de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*), Langostino de Malasia (*Macrobrachium rosenbergii*) (CNA, 2018).

Manipulación genética en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

Aunque en México la introducción de organismos acuáticos para la acuicultura ha sido realizada durante décadas, sólo en ciertos casos los resultados se han traducido en beneficios. Con el propósito de mejorar la calidad de la producción en especies acuícolas, se utilizan diferentes métodos, en el que se destaca el mejoramiento genético, donde se pueden obtener grandes ventajas. Con las especies mejoradas genéticamente se puede obtener altos rendimientos ya que son organismos con cualidades cada vez más idóneas para asegurar la viabilidad de los cultivos; el propósito de este método es obtener características ventajosas como el rápido crecimiento somático, mejoras en índice de reproducción, aumentar la resistencia a enfermedades y óptima conversión alimenticia.

Como ejemplo, se puede mencionar la investigación genética experimental para su aplicación en acuicultura con el fin de optimizar el crecimiento del abalón, *Haliotis rufescens* por Mancilla-Sánchez y Portilla-López (2017).

Producción de acuicultura por medio de cultivo los Estados Unidos Mexicanos
Fuente: FAO FishStat

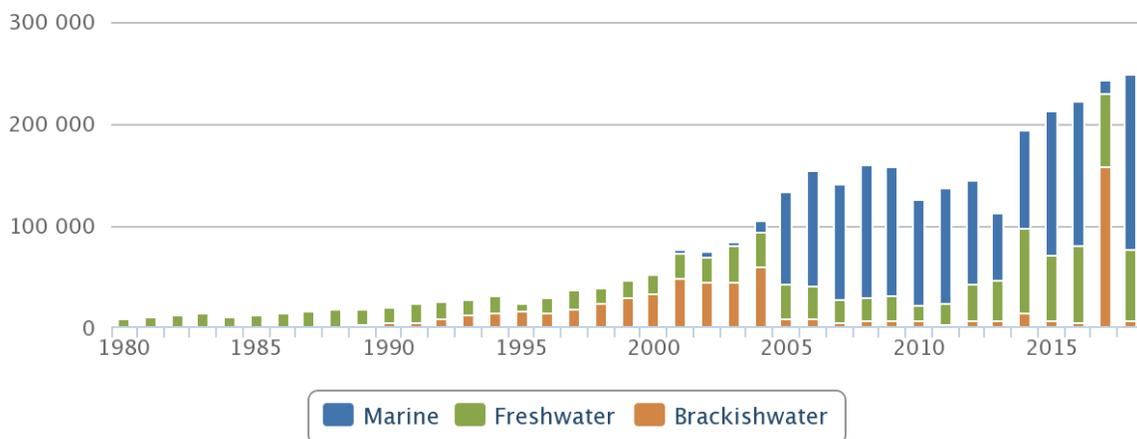


Figura 44. Producción acuícola de México para diferentes ambientes acuáticos.

11. REINO UNIDO

El desarrollo de la acuicultura en el Reino Unido es preferentemente en ambiente marino y dulceacuícola (Figura 45).

Peces

El Reino Unido es el tercer productor mundial de salmón del Atlántico (*Salmo salar*), pero otro salmónido que se cultiva es la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Producción se obtiene en la lubina (*Dicentrarchus labrax*) y el lenguado *Psetta máxima*.

Invertebrados

Los moluscos cultivados mayoritariamente son la ostra (*Crassostrea gigas*), el mejillón azul (*Mytilus edulis*) y el ostión (*Pecten maximus*).

Manipulación genética en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

En peces, investigaciones de tipo experimental se han realizado con tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Rahman & McLean, 1992; Alam, 1996) y el pez cebra *Danio rerio* (Cvejic, 2008). Mientras que avances en biotecnología experimental para la producción de lípidos han sido logrados en la microalga *Phaeodactylum tricornutum* (Hamilton *et al.*, 2014).

Aquaculture production by culture environment the United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Source: FAO FishStat

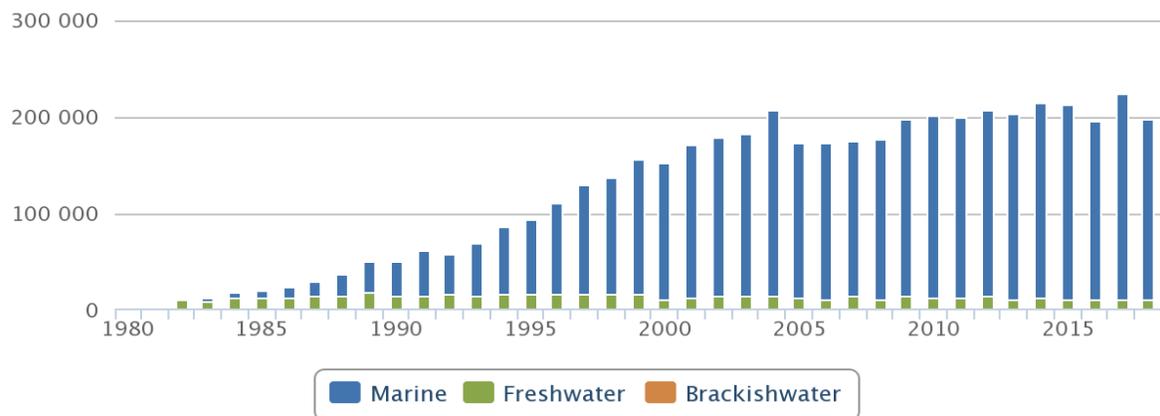


Figura 45. Producción acuícola de Reino Unido de Gran Bretaña para diferentes ambientes acuáticos

12. FINLANDIA

La producción acuícola en Finlandia está representada por especies marinas y de agua dulce (Figura 46). En 2018, la piscicultura finlandesa produjo aproximadamente 14.300 toneladas para la venta, de las cuales el 92% fue truchas arcoiris. Además, en Finlandia se produjeron aproximadamente 800 toneladas de pescado blanco europeo (*Coregonus albula*) (Luke, 2019)

Manipulación genética en hidrobiológicos de interés acuícola

Se han realizado investigaciones experimentales para su aplicación en acuicultura sobre el metabolismo de carbohidratos en las especies *Oncorhynchus mykiss* y *Salvelinus fontinalis* (Pitkänen, 1999); mientras que aplicaciones de técnica CRISPR han sido desarrollada por Asparwar (2015) y Ojanen (2019) en investigación experimental en el pez cebra (*Danio rerio*).

Aquaculture production by culture environment the Republic of Finland (tonnes)
Source: FAO FishStat

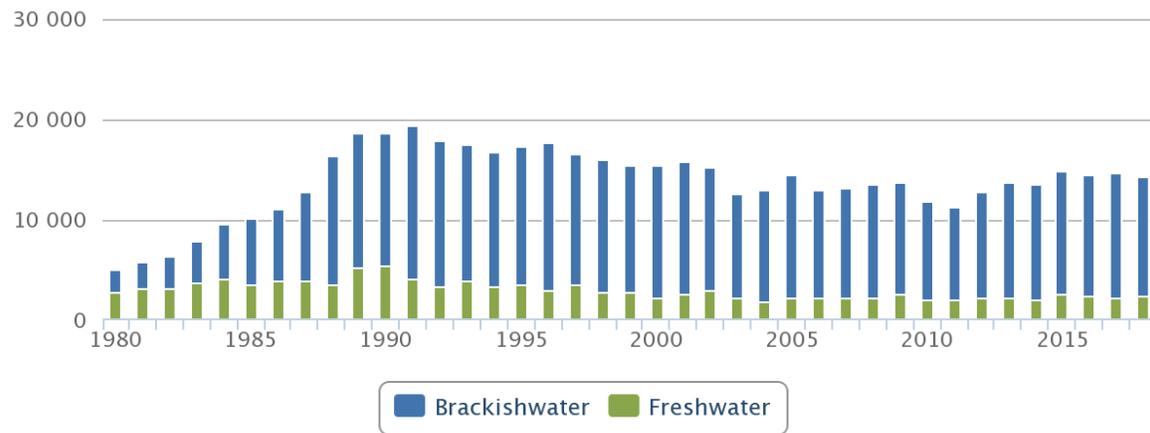


Figura 46. Producción acuícola de Finlandia para diferentes ambientes acuáticos

13. ALEMANIA

La producción acuícola de Alemania ha alcanzado en los últimos años, cifras aproximadas a las 50.000 toneladas, en las cuales las especies de mayor producción son la carpa y la trucha arco iris (Figura 47).

Peces

Las trucha (*Oncorhynchus mykiss*) y la carpa común (*Cyprinus carpio*) son las de mayor producción con cultivos a elevadas densidades en estanques de tierra, canales y otras instalaciones modernas tanto al aire libre como en interiores con sistemas de flujo de circulación intensos.

Otros salmónidos, tales como la trucha marina (*Salmo trutta trutta*) y trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*) también son cultivados en estanques, pero con baja producción. También, se cultivan otras especies de peces como el rodaballo (*Psetta maxima*) y la lubina (*Dicentrarchus labrax*).

Invertebrados

La acuicultura en aguas salobres y marinas se centra en el mejillón azul (*Mytilus edulis*). El volumen producido de esta especie varía dependiendo de la abundancia anual de semillas disponibles.

Algas

El cultivo experimental de *Laminaria saccharina* se realiza en sistemas de recirculación cerca de las costas.

Modificaciones genéticas en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

Experiencias experimentales han sido realizada con el pez zebra, *Danio rerio* (Dahn, 2006). Recientemente, Regneri (2019) ha utilizado las especies *Oryzias latipes* y *Xiphophorus* sp. en investigación experimental para la modificación de un supresor tumoral de melanoma humano mediante CRISPR. Otras investigaciones en biotecnología se han realizado en la microalga *Haematococcus pluvialis* para la producción de carotenoides (Steinbrenner & Sandmann, 2006).

Aquaculture production by culture environment the Federal Republic of Germany (tonnes)
Source: FAO FishStat

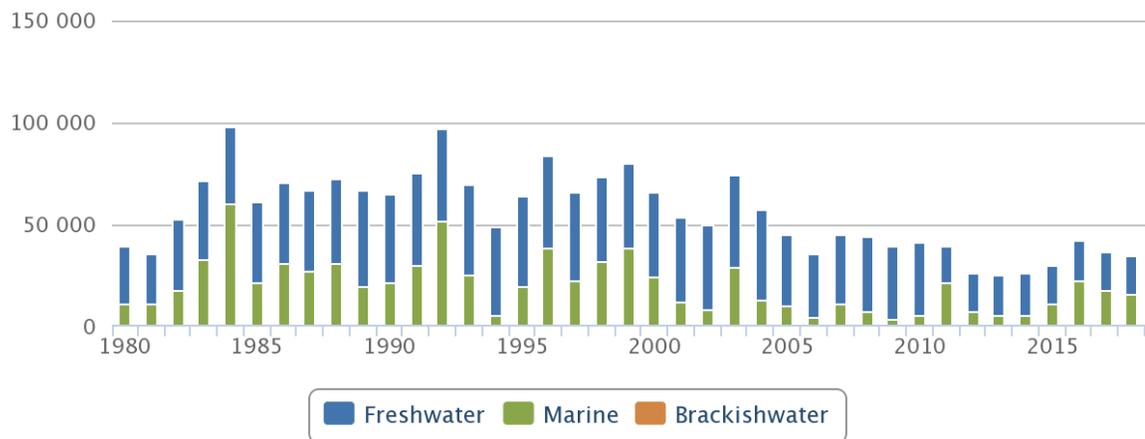


Figura 47. Producción acuícola de Alemania para diferentes ambientes acuáticos

14. NORUEGA

La producción acuícola en Noruega es de gran relevancia mundial y está basada principalmente por el Salmón del Atlántico, aunque otras especies marinas también contribuyen a este rubro (Figura 48).

Peces

Dentro de las diferentes especies con importancia en acuicultura encontramos al salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Junto con el crecimiento del cultivo de salmónidos, también se ha orientado el interés hacia otras especies marinas tales como el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*), el pez plano del Atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*) y el perro pintado (*Anarhichas minor*). Adicionalmente, la anguila europea (*Anguilla anguilla*), el bagre africano (*Clarias gariepinus*), la lucioperca (*Sander lucioperca*), el rodaballo (*Psetta maxima*) y el lenguado común (*Solea solea*), también han sido objeto de cultivos experimentales.

Invertebrados

El mejillón azul (*Mytilus edulis*), la ostra europea (*Ostrea edulis*) y la ostra japonesa (*Crassostrea gigas*) son las especies de mayor cultivo, siendo *M. edulis* la más relevante.

Modificación genética en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

Los avances en investigación genética se han realizado principalmente en el salmón del Atlántico (Jensen *et al.* 2002 y Edvardsen, 2014). En 2016, Wargelius utiliza la técnica CRISPR para investigación para obtener fenotipos albinos.

Producción de acuicultura por medio de cultivo el Reino de Noruega
Fuente: FAO FishStat

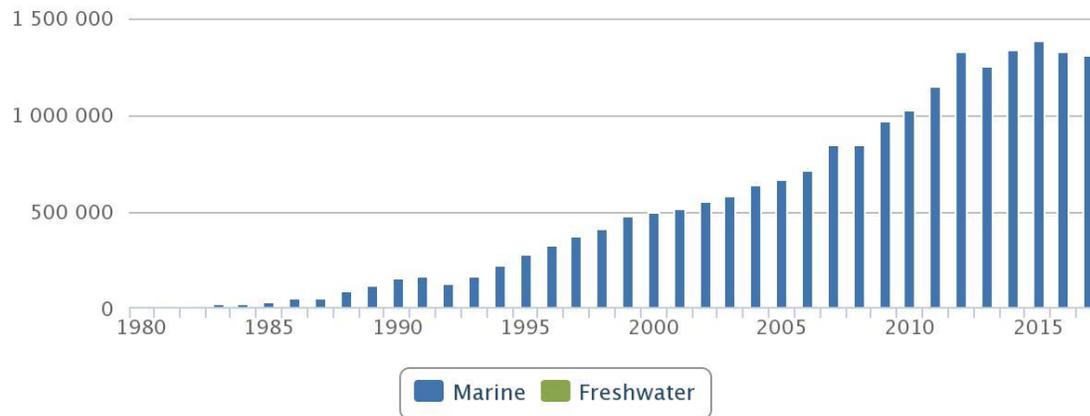


Figura 48. Producción acuícola de Noruega para diferentes ambientes acuáticos

15. RUSIA

La producción acuícola en Rusia está representada principalmente por peces de agua dulce seguida de especies marinas (Figura 49). Las carpa son los principales peces producidos por la acuicultura industrial y en años recientes su producción ha crecido más del 80 %.

Peces

En las aguas dulces se cultivan las especies de carpas *Cyprinus carpio*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Hypophthalmichthys nobilis*, y *Ctenopharyngodon idellus*. Otros peces son la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), el esturión de Siberia (*Acipenser baerii*), y el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*).

Invertebrados

En Moluscos encontramos al mejillón del mediterráneo (*Mytilus galloprovincialis*) y el pepino de mar (*Apostichopus japonicus*).

Manipulación genética en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

Investigación experimental en aplicaciones genéticas se ha realizado en la microalga verde-azul, *Chlamydomona reinhardtii* en estudios sobre su resistencia a los antibióticos Paromomicina, Kanamicina y Neomicina (Sizova *et al.* 2001).

Producción de acuicultura por medio de cultivo la Federación de Rusia
Fuente: FAO FishStat

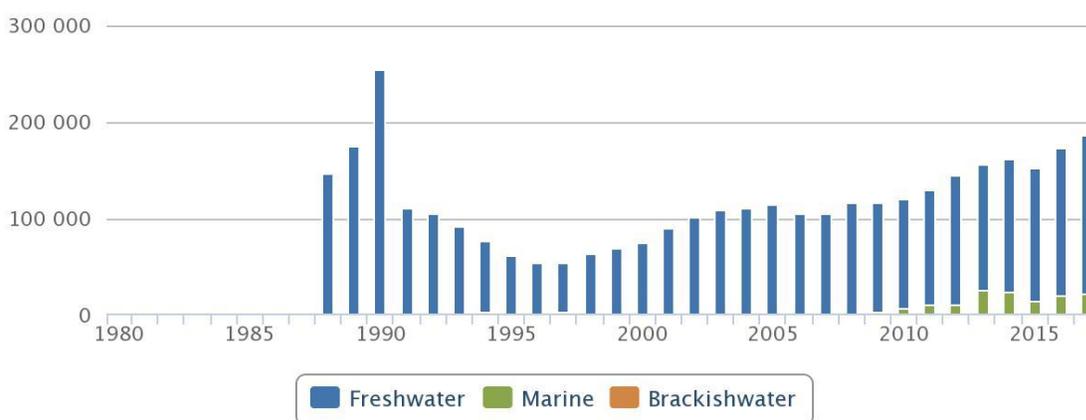


Figura 49. Producción acuícola de Rusia para diferentes ambientes acuáticos

16. REPUBLICA DE COREA DEL SUR

La producción acuícola en Corea del Sur está representada principalmente por peces de marinos (Figura 50).

Peces

Los peces son las especies más importantes en la acuicultura de agua dulce incluyendo trucha arcoíris, pescado del fango (*Clarias* sp.), anguila japonesa (*Anguilla japonica*), tilapia (*Oreochromis niloticus*), carpa común (*Cyprinus carpio*), loach (*Misgurnus mizolepis*), carpa coloreada (*Cyprinus carpio* *koii*), cabeza de serpiente (*Channa* sp.), bagre coreano (*Pelteobagrus fulvidraco*), y pez rojo (*Carassius auratus*). El cultivo de peces marinos está dominado por lenguado (*Paralichthys olivaceus*) y el chancharro coreano (*Sebastes schlegelii*).

Invertebrados

Los moluscos son el segundo grupo más importante de los productos de acuicultura marina en Corea del Sur y las principales especies producidas incluyen la ostra japonesa (*Crassostrea gigas*), la ostra perlera japonesa (*Pinctada fucata*), el mejillón coreano (*Mytilus coruscus*), las ascidias oyas roja (*Halocynthia roretzi*), la almeja japonesa (*Ruditapes philippinarum*), las arcas (*Anadara satowi* y *A. broughtoni*), los berberechos (*A. granosabisenensis* y *A. subcrenata*), el ostión japonés (*Patinopecten yessoensis*) y el abalón japonés (*Haliotis discus hannai*). En el caso de los crustáceos, el cultivo incluye principalmente dos especies de camarones y algunos cangrejos, como son el langostino carnoso (*Penaeus chinensis*) y el langostino japonés (*Penaeus japonicus*).

Algas

La maricultura hace la mayor contribución a la producción total de acuicultura en Corea del Sur y en 2003 representó el 98 % de la producción total; de esta producción total el 55 % consistió de algas marinas, entre las cuales destacan la mostaza de mar (*Caulerpa* sp.), lechuga nori (*Porphyra* spp.), laminaria (*Laminaria* spp.), fusiforme (*Hizikia fusiformis*), lechuga brillante (*Monostroma* sp.) y codio (*Codium* sp.).

Modificación genética en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

Investigación experimental en crecimiento corporal para su aplicación en acuicultura ha sido desarrollado por Nam (2001) en el pez *Misgurnus mizolepis*. Otras investigaciones en etapa experimental se han desarrollado en la microalga *Chlorella elipsoidea* utilizando fGH (Kim *et al.*, 2002). Baek (2016) realiza investigación en etapa experimental sobre la productividad fotosintética en el alga *Chlamidomona reinhardtii*.

Producción de acuicultura por medio de cultivo la República de Corea
Fuente: FAO FishStat

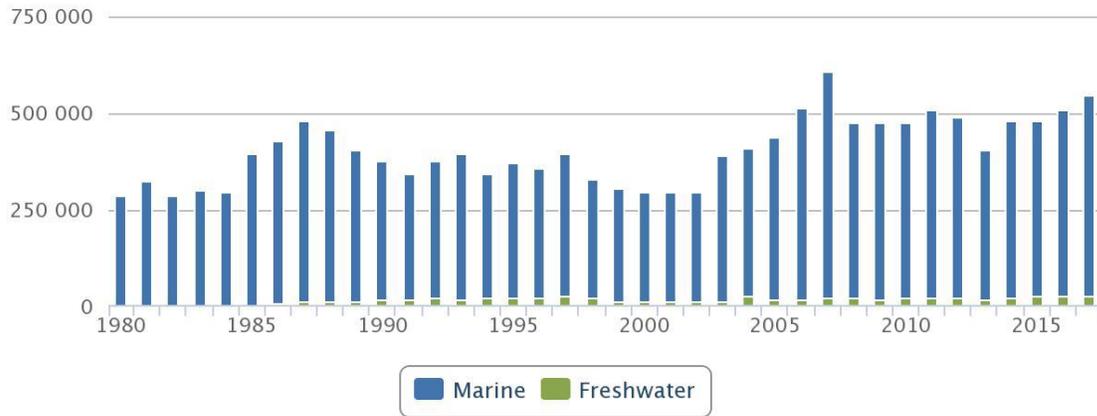


Figura 50. Producción acuícola de Corea para diferentes ambientes acuáticos

17. ESPAÑA

El desarrollo de la acuicultura continental, se ha basado en la producción de la trucha común en atención a la alta calidad de los recursos acuáticos existentes en España. A menor escala se han desarrollado otros cultivos de especies continentales, pero muy localizados geográficamente por las características ambientales y por los hábitos de consumo específicos de los habitantes de ciertas regiones.

En cuanto a la acuicultura marina, la producción de peces marinos durante los últimos años viene experimentando un crecimiento importante; sin embargo, la producción mediante cultivos intensivos del mejillón del mediterráneo (*Mytilus galloprovincialis*) es de liderazgo mundial. (Figura 51).

Peces

Entre los peces que se cultiva está la dorada (*Sparus aurata*), la lubina (*Dicentrarchus labrax*) y el rodaballo (*Psetta maxima*).

Invertebrados

La especie con mayor producción de la acuicultura española con liderazgo mundial es el mejillón del mediterráneo (*Mytilus galloprovincialis*).

Modificaciones genéticas en organismos hidrobiológicos de interés acuícola

Los trabajos desarrollados en España en relación a mejoras genéticas, se han centrado principalmente en la especie, *Sparus aurata*. Dichos trabajos han permitido optimizar la metodología y ponerla al alcance del sector industrial español para desarrollar protocolos de selección intraespecíficos mediante la definición de caracteres de interés comercial, el estudio de sus parámetros genéticos, la estimación de la importancia de la interacción genotipo-ambiente y la gestión de reproductores bajo las condicionantes de la propia industria. Los desarrollos biotecnológicos llevados a cabo constituyen en sí mismos transferencia de conocimiento, ya que han sido realizados por las propias empresas del sector y bajo sus condiciones rutinaria de producción industrial. Los resultados finales son una demostración por ejemplo, que en el caso de dorada se puede obtener un valor agregado a sus productos con la incorporación de la trazabilidad genética de los animales para el control genético de animales en hatcheries y empresas de engorde .

Producción de acuicultura por medio de cultivo el Reino de España
Fuente: FAO FishStat

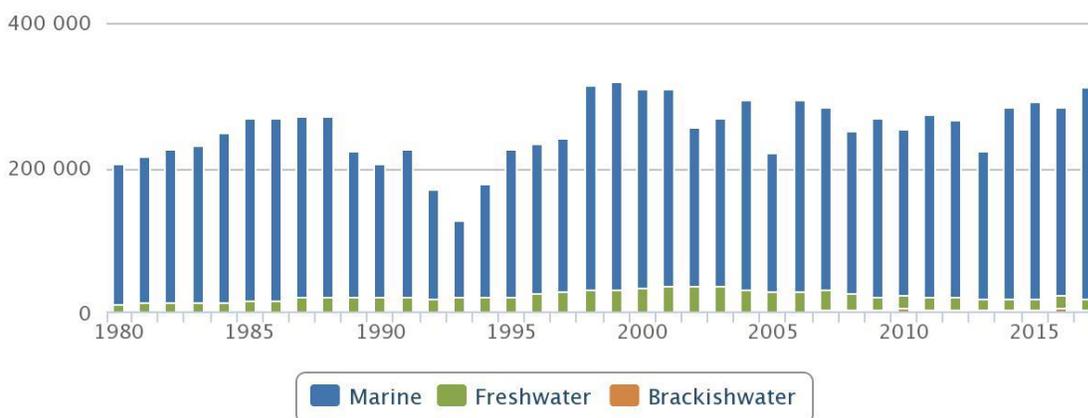


Figura 51. Producción acuícola de España para diferentes ambientes acuáticos

ASPECTOS REGULATORIOS Y NORMATIVA SOBRE EDICIÓN DE GENOMA

En las discusiones sobre los procesos biotecnológicos utilizados para generar cambios genéticos específicos en plantas, animales y microorganismos, la “edición de genes” es un término general comunmente usado.

Dentro de las regulaciones y normativas nacionales e internacionales usadas, se pueden encontrar que estas biotécnicas son llamadas también con los siguientes nombres:

Español	Inglés
Edición del genoma	Genome editing
Innovaciones en fitomejoramiento	Plant breeding innovations
Técnicas de crianza de precisión	Precision breeding techniques
Nuevas técnicas de fitomejoramiento	New plant breeding techniques (NBT)
Innovaciones de crianza de precisión	Precision breeding innovations
Técnicas innovadoras de crianza	Innovative breeding techniques

En esta materia, Argentina fue uno de los primeros países en el mundo en establecer un marco regulatorio para los OGM (Tabla 8), mediante una evaluación caso por caso, a través de un procedimiento simplificado en el que los solicitantes pueden requerir a la autoridad administrativa correspondiente, determinar si un producto entra en la categoría de un OGM o no. El análisis de evaluación respectiva considera: a) las técnicas utilizadas en el proceso; b) si hubo un cambio genético permanente; y c) la ausencia de un transgén en el producto final. Además, el proceso incluye un análisis de riesgos que debe ser realizado incluso si un cultivo está exento de las regulaciones para OGM, pero posee características que pueden presentar la probabilidad de un riesgo notable, puede entonces ser susceptible a la vigilancia por las autoridades correspondientes. Al mismo tiempo, en consonancia con las consideraciones de la Ley de Bioseguridad y con el fin de ayudar a los desarrolladores con la eficiencia del tiempo, la norma permite que las investigaciones preliminares se puedan presentar para los productos en proceso de ser desarrollados, lo que permite a los desarrolladores, anticipar si sus productos esperados caerán dentro del ámbito de las regulaciones de OGM.

El enfoque de Argentina para el trabajo con OGMs integra conceptos normativos, comerciales y tecnológicos con el fin de mantener un equilibrio consciente de las consideraciones de seguridad, aunque no sin tener en cuenta el desarrollo de nuevos productos.

Otro ejemplo es Brasil en la generación de normativa para el usos de los OGMs, que también ha dado un paso importante en esta dirección con la Resolución Normativa 16 (NR 16) que establece los requisitos para una consulta sobre si un producto puede estar exento del marco regulatorio OGM. Así, en algunos casos, la evaluación completa de los riesgos y la gestión de los OGM deben ser ejecutados, mientras que en otros casos, los productos derivados de NBT y mejoras innovadoras de precisión pueden estar exentos de estas restricciones.

Otros países que legislan en materias de los OGMs, son Australia, Canadá, Chile, Colombia, Estados Unidos, Japon, Honduras, Israel, y Paraguay. Para más detalle ver Tabla 8.

En el caso de Europa, una sentencia del Tribunal Europeo decidió que los organismos editados genéticamente con técnicas como el CRISPR, deben ser considerados transgénicos y, por tanto, deben estar regulados por las normativas que limitan su cultivo dentro de la UE.

Los países que no permiten organismos genéticamente modificados en sus territorios hasta ahora son Austria, Bulgaria, Croacia, Chipre, Dinamarca, Francia, Grecia, Hungría, Italia, Letonia, Lituania, Luxemburgo, Malta, Holanda, Polonia, Eslovenia y Alemania. No obstante, Alemania propone permitir el cultivo de transgénicos sólo con fines de investigación.

A esta lista hay que agregar a Bélgica y Reino Unido, que pidieron que el bloqueo al uso de los organismos genéticamente modificados rija sólo para algunas partes de sus territorios, como la región de Valonia en el caso de Bélgica y Escocia, Gales e Irlanda del Norte en el Reino Unido.

Tabla 8. Países con regulación y normativas sobre edición de genomas

País	Agencia	Herramienta regulatoria	Año	Descripción	Definiciones importantes
Argentina	MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA	Resolución 173/2015	2015	<p>Dirigida a plantas mejoradas: Artículo 1.º - Establece los procedimientos para determinar cuándo un cultivo, obtenido a partir de nuevas técnicas de mejoramiento que utilicen técnicas de biotecnología moderna, no se encuentra comprendido en el marco de la Resolución N.º 763 de fecha 17 de agosto de 2011 del ministerio de agricultura, ganadería y pesca y su normativa complementaria.</p> <p>ARTÍCULO 5º — En caso de que la CONABIA (COMISION NACIONAL ASESORA DE BIOTECNOLOGIA AGROPECUARIA) dictamine que no se ha producido una nueva combinación de material genético y, de corresponder, que no subsisten eventos no autorizados en el cultivo, la SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA del MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA, a través de la citada Dirección de Biotecnología, informará fehacientemente al interesado que su producto no se haya alcanzado por la citada Resolución N° 763/11 y su normativa complementaria.</p>	<p>«Biotecnología Moderna» toda aplicación tecnológica que, basada en conocimientos racionales y principios científicos provenientes de la biología, la bioquímica, la microbiología, la bioinformática, la biología molecular y la ingeniería genética, utiliza organismos vivos o partes derivadas de los mismos para la obtención de bienes y servicios, o para la mejora sustancial de procesos productivos y/o productos, entendiéndose por «sustancial» que conlleve contenido de innovación susceptible de aplicación industrial, impacto económico y social, disminución de costos, aumento de la productividad, u otros efectos que sean considerados pertinentes por, la Autoridad de Aplicación.</p> <p>La Resolución N° 701/11 define OVGGM como aquel organismo vegetal que posea una combinación de material genético que se haya obtenido mediante la aplicación de la biotecnología moderna.</p>

					Que, asimismo, dicha norma define evento como “la inserción en el genoma vegetal en forma estable y conjunta, de UNO (1) o más genes o secuencias de ADN que forman parte de una construcción genética definida”.
	MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA	RESOL-2019-36-APN-SAYBI#MPYT	26 junio 2019	Establece los procedimientos para determinar cuándo un cultivo obtenido a partir de nuevas técnicas de mejoramiento que utilicen técnicas de biotecnología moderna no se encuentra comprendido en el marco de la Resolución N° 763	
	MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA	RESOL-2019-63-APN-SAYBI#MPYT	23 agosto 2019	Establece los procedimientos para determinar cuándo un animal obtenido a partir de nuevas técnicas de mejoramiento que utilicen técnicas de biotecnología moderna no se encuentra comprendido en el marco de la Resolución N° 763	
	MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA	RESOL-2019-52-APN-SAYBI#MPYT	30 julio 2019	Establece los procedimientos para determinar cuándo un microorganismo obtenido a partir de nuevas técnicas de mejoramiento que utilicen técnicas de biotecnología moderna no se encuentra comprendido en el marco de la Resolución N° 763	
Australia	Ministro de Servicios Regionales, Deporte, Gobierno Local y Descentralización	Gene Technology Regulations 2001 Enmienda de tecnología genética (medidas de	17 junio 2016 4 abril 2019	Documento en el que se especifica que no corresponde a un organismo genéticamente modificado Enmienda de tecnología genética en la que se esclarece que corresponde y que	

		2019 No. 1) Reglamento 2019		no corresponde a un organismo genéticamente modificado	
Brasil	CTNBio (Comisión Técnica Nacional de Bioseguridad)	Resolución Normativa N°16	15 enero 2018	Establece los requisitos técnicos para la presentación de consulta a la CTNBio sobre las Técnicas Innovadoras de Mejoramiento Preciso.	<p>Técnicas Innovadoras de Mejoramiento Preciso (TIMP), En ingles Precision Breeding Innovation (PBI)</p> <p>También se engloban las denominadas Nuevas técnicas de mejoramiento genético, en ingles New Breeding Technologies -NBTs, que pueden originar un producto que no se considera un organismo modificado genéticamente (OMG)</p> <p>Art. 1 Se consideran ejemplos de técnicas innovadoras de mejora de precisión (TIMP), pero No se limita a estas, las tecnologías descritas en el Anexo I:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Floración temprana -Tecnología para la producción de semillas -Mejoramiento Inverso -Metilación del ADN dependiente de ARN -Mutagénesis sitio dirigida -Mutagénesis direccionada por oligonucleótidos -Agroinfiltración / Agroinfección ARNi uso tópico / sistémico -Vector viral <p>La categoría de OGM no incluye el resultado de técnicas que implican la introducción directa de material</p>

					hereditario en un organismo, siempre que no impliquen el uso de moléculas recombinantes de ADN / ARN o OGM, incluida la fertilización in vitro, la conjugación, la transducción, transformación, inducción poliploide y cualquier otro proceso natural.
Canadá	Health Canada (HC) Fisheries and Oceans Canada: administra las notificaciones de nuevas sustancias para productos pesqueros de biotecnología y realiza evaluaciones de riesgos)	Ley: Canadian Environmental Protection Act, 1999 Reglamento: New Substances Notification Regulations (Organisms)	16 Mayo de 2016	El gobierno de Canadá ha determinado que el salmón AquAdvantage modificado genéticamente es tan seguro y nutritivo para los humanos y el ganado como el salmón convencional. En Canadá, los nuevos productos solo están autorizados una vez que los reguladores están convencidos de que cada aspecto de las evaluaciones se ha abordado adecuadamente. AquAdvantage Salmon requirió tres evaluaciones separadas. Health Canada evaluó la seguridad y la nutrición de AquAdvantage Salmon para su uso como alimento, la Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos (CFIA) evaluó la seguridad y nutrición de AquAdvantage Salmon para su uso como alimento para el ganado y Environment and Climate Change evaluó el riesgo del entorno.	La " biotecnología moderna " se utiliza para distinguir las aplicaciones más recientes de la biotecnología, como la ingeniería genética y la fusión celular, de los métodos más convencionales, como la reproducción o la fermentación. Muy a menudo, el término "biotecnología" se usa indistintamente con "biotecnología moderna"
Chile	SAG (Servicio Agrícola y Ganadero)	Enfoque metodológico publicado por SAG	Junio 2017	Un material de propagación desarrollado por alguna de estas técnicas biotecnológicas de mejoramiento genético vegetal distintas a la transgenia, sea importado o nacional, se pronunciará mediante resolución, respecto a si dicho material se encuentra dentro o fuera del	Biotecnología Moderna: La aplicada mediante técnicas in vitro de ácido nucleico, incluido el ácido desoxirribonucleico recombinante y la inyección directa de ácido nucleico en células u orgánulos o la fusión de células más allá de la

				<p>alcance de la Resolución N° 1523 de 2001. Para ello, el SAG evaluará los antecedentes presentados sobre la técnica y verificará si el material de propagación en cuestión posee una combinación nueva de material genético.</p>	<p>familia taxonómica, que superan las barreras fisiológicas naturales de la reproducción o de la recombinación y que no son técnicas utilizadas en la reproducción y selección tradicional.</p> <p>Nueva combinación de material genético: una inserción estable de uno o más genes o secuencias de ADN que codifiquen proteínas, ARN de interferencia, ARN de doble hebra, péptidos de señalización o secuencias regulatorias.</p>
Colombia	ICA (Instituto Colombiano Agropecuario)	Resolución No. 00029299	01 agosto 2018	<p>Por el cual se establece el procedimiento para el trámite ante el ICA de solicitudes de un cultivar mejorado con técnicas de innovación en fitomejoramiento a través de Biotecnología moderna, con el fin de determinar si el cultivar corresponde a un Organismo Vivo Modificado o a un convencional y en consecuencia determinar si se les debe aplicar o no la regulación de Organismos Vivos Modificación (OVM).</p>	<p>Biotecnología moderna: Aplicación de técnicas in vitro de ácidos nucleicos, incluidos el ácido desoxirribonucleico (ADN) recombinante y la inyección directa de ácidos nucleicos en células u orgánulos, o la fusión de células más allá de la familia taxonómica, que superan las barreras fisiológicas naturales de la reproducción o de la recombinación y que no son técnicas utilizadas en la reproducción y selección tradicional.</p> <p>Para que un cultivar no sea considerado OVM, no deberá contener un gen, conjunto de genes o secuencias de ADN que forman parte de una construcción</p>

					genética definida y que han sido introducidos en su genoma en forma estable a través de técnicas de biotecnología moderna
EEUU	United States Department of Agriculture (USDA)	NADA 141-454 (new animal drug application)	Noviembre 2015	Aprobación FDA para comercialización de AquAdvantage® Salmon (AAS) para consumo humano	
EEUU	United States Department of Agriculture (USDA), Animal and Plant Health Inspection Service	Declaración Publica Secretary Perdue Issues USDA Statement on Plant Breeding Innovation	28 marzo 2018	De acuerdo con nuestra responsabilidad de proteger la salud de las plantas, el USDA ha revisado cuidadosamente los productos de estas nuevas tecnologías para determinar si requieren supervisión regulatoria. Según sus regulaciones de biotecnología, el USDA actualmente no regula ni tiene planes para regular las plantas que de otro modo podrían haberse desarrollado a través de técnicas de mejoramiento tradicionales siempre que se desarrollen sin el uso de una plaga vegetal como donante o vector y no lo sean ellos mismos plagas de plagas.	Esto puede incluir variedades de plantas con los siguientes cambios: -Deleciones: el cambio en la planta es únicamente una eliminación genética de cualquier tamaño. -Sustituciones de un solo par de bases: el cambio a la planta es una sustitución de un solo par de bases. -Inserciones de parientes de plantas compatibles: el cambio en la planta solo introduce secuencias de ácido nucleico de un pariente compatible que de otro modo podría cruzarse con el organismo receptor y producir una progenie viable a través de la reproducción tradicional. -Segregantes nulos completos: descendencia de una planta genéticamente modificada que no retiene el cambio de sus padres.
Japón	Ministerio del medio ambiente, Ministerio de Agricultura,	Informe: Manejo de organismos obtenidos mediante el uso de la tecnología de edición del genoma y que no entran	8 febrero 2019	Informe al Subcomité de Medio Ambiente en el que se formuló el "Manejo de organismos que se obtienen mediante el uso de la tecnología de edición del genoma y no entran en "organismos	Cualquier organismo que inserte ácido nucleico procesado de forma extracelular (incluido el ARN) se considera un organismo vivo modificado (OVM), incluso aquellos

	Silvicultura y Pesca	dentro de los "organismos genéticamente modificados" especificados por la Ley de Cartagena		<p>genéticamente modificados" especificados por la Ley de Cartagena. Directrices y diagrama de flujo a seguir de acuerdo a si el organismo es considera o no un OGM, para determinar si debe estar sujeto a regulación.</p> <p>El comité ha considerado que es necesaria una distinción entre la edición del genoma que agrega un gen externo al código genético de un organismo, y la edición que elimina o deshabilita secciones del genoma del organismo pero no inserta nada nuevo. El comité concluyó que los organismos producidos utilizando el método anterior podrían afectar el medio ambiente al cruzarse con especies preexistentes y crear híbridos y, por lo tanto, requieren una regulación bajo la legislación basada en el Protocolo internacional de Cartagena sobre seguridad de la biotecnología. Sin embargo, cortar una parte del código genético de un organismo para privarlo de funciones específicas no necesita regulación, ya que el daño genético que da origen a una nueva especie también ocurre en la naturaleza.</p>	obtenidos mediante tecnologías de edición del genoma, y está sujeto a las normas estipuladas en la Ley de Cartagena, en principio.
Honduras	SENASA (Servicio Nacional de Sanidad e Inocuidad Agroalimentaria)	Acuerdo C.D. SENASA 008-2019	12 septiembre 2019	<p>Artículo primero: Aprobar el procedimiento de autorización para solicitudes relacionadas con el uso de nuevas técnicas de mejoramiento genético (biotecnología de precisión).</p> <p>biotecnología de mejoramiento de precisión, edición de genoma, innovación</p>	OVM: La definición de Organismo Vivo Modificado será la tipificada en el Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología, entendiéndose por nueva combinación de material genético, una inserción estable en el genoma de uno o más genes o secuencias

				de mejoramiento vegetal o técnicas modernas de mejoramiento genético	<p>de ADN que codifiquen proteínas, ARN, ADN de doble hebra o secuencias regulatorias, que no podrían ser obtenidas por mejoramiento convencional, no se encuentran en la naturaleza, o no son el resultado de mutaciones espontáneas o inducidas.</p> <p>Nuevas técnicas: SENASA entenderá por Nuevas Técnicas de Mejoramiento Genético, aquellos procedimientos de mejoramiento genético que utilizan el conocimiento preciso de la relación entre el genotipo y fenotipo y las herramientas de la biología molecular que permiten desarrollar un organismo que en la mayoría de los casos es equivalente o indistinguible al que pueda desarrollarse utilizando técnicas tradicionales de mejoramiento genético.</p>
Israel	Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Comité Nacional de Plantas Transgénicas (NCTP)	Resumen de la reunión del NCTP del 08/08/16	5 marzo 2017	La Administración debe aceptar la recomendación de que la progenie de plantas que se sometieron a mutagénesis dirigida a través de la tecnología de edición de genes no se considerará OGM o plantas transgénicas. Por lo tanto, su cultivo no estará sujeto a la regulación de semillas (plantas y organismos genéticamente modificados)	

Paraguay	Ministerio de Agricultura y Ganadería, Comisión Nacional de Bioseguridad Agropecuaria y Forestal (CONBIO)	Resolución 842	10 julio 2019	<p>Por el cual se aprueba el documento: "Formulario 3: de consulta previa para productos obtenidos mediante nuevas técnicas de mejoramiento (New Breeding Techniques)".</p> <p>Asimismo, informa que el formulario mencionado permitirá al solicitante proveer la información requerida para determinar si el producto debe o no ser evaluado por la CONBIO.</p>	
Unión Europea	Unión Europea	SENTENCIA DEL TRIBUNAL DE JUSTICIA respecto de la Directiva 2001/18	25 Julio 2018	<p>Los organismos obtenidos mediante técnicas o métodos de mutagénesis deben considerarse OMG en el sentido del artículo 2, punto 2, de la Directiva 2001/18.</p> <p>A este respecto, el artículo 2, punto 2, letra a), de la Directiva 2001/18 precisa que, a efectos de la definición de OMG, se produce una modificación genética siempre que se utilicen, al menos, las técnicas que se enumeran en el anexo I A, parte 1.</p> <p>Pues bien, aunque el anexo I A, parte 1, de esta Directiva no cita explícitamente las técnicas o métodos de mutagénesis, esta circunstancia no es suficiente para excluir los organismos obtenidos mediante estas técnicas o métodos de la definición de OMG que figura en el artículo 2, punto 2, de dicha Directiva.</p>	

Si bien algunas legislaciones han decidido tratar algunas nuevas biotecnologías en vegetales como simplemente una variación del fitomejoramiento convencional existente y aplicar la evaluación caso por caso (por ejemplo, Estados Unidos, Canadá, Argentina, Brasil, Chile, Colombia y Australia), otras permanecen sumidas en la incertidumbre, incapaces de determinar qué hacer o cómo proceder para regular los OGMs (por ejemplo, la UE y Francia, que buscan utilizar la tecnología como desencadenante).

Frente a estas diversas alternativas legislativas, cabe la pregunta: ¿Por qué la UE, Canadá y Estados Unidos regulan la misma tecnología de manera diferente a pesar de sus condiciones económicas similares?

En parte, la respuesta radica en la percepción pública; es decir, la evaluación subjetiva de los posibles riesgos y beneficios por parte del mercado consumidor. Si bien los estadounidenses tienen una actitud generalmente positiva sobre la seguridad y los beneficios de los cultivos biotecnológicos; en cambio la mayoría de los europeos tienen una opinión negativa (Einsele, 2007). Por lo tanto, un consenso en la adopción de tecnología para el mejoramiento genético de cultivos dependerá no sólo del mejor método y evidencia científica, sino también de una participación ciudadana efectiva y apropiada por los posibles consumidores y el sector la productivo industrial en la discusión regulatoria (Chapotin & Wolt, 2007).

En las últimas dos décadas, en el contexto del fitomejoramiento, el progreso científico ha creado una gama de nuevas herramientas que se encuentran entre la ingeniería genética y las técnicas convencionales (Sprink *et al.*, 2016). Sin embargo, la aplicación de NBT (con su subconjunto de edición de genes) carece de claridad legal. Una razón podría ser el amplio espectro de NBTs bajo evaluación. Algunas técnicas son un refinamiento de la reproducción convencional y no alteran el material genético, como el caso de la metilación del ADN dependiente de ARN (RdDM) (HLG-SAM, 2017). Algunas formas de herramientas de edición de genes, incluidas CRISPR, TALEN y ZFN induce cambios en el genoma específicos del sitio mediante el desarrollo de nucleasas dirigidas al sitio (SDN). Como estas mutaciones puntuales son alteraciones de precisión (SDN1 y SDN2), los productos finales están libres de transgenes y podrían escapar de las reglas de GM (Araki e Ishii, 2015). Otras herramientas de edición de genes implican inserciones de genes y es probable que produzcan productos transgénicos (SDN3). Con el advenimiento de varios NBT y su heterogeneidad (e.g. diferentes procesos moleculares, variedad

de productos derivados), los países difieren en la forma en que regulan las tecnologías (Lassoued *et al.*, 2018).

RECOPIACIÓN Y ANÁLISIS DE NORMATIVAS EN LEYES CHILENAS VIGENTES RELACIONADAS CON LOS OGMs DE ORIGEN MARINO.

En razón al incipiente desarrollo de la biotecnología aplicada en la acuicultura mediante técnicas de la biología celular y molecular y lo complejo de evaluar con anticipación los impactos biológicos y éticos de sus resultados, la actual normativa en Chile sobre la manipulación, generación, protección, transporte, cultivo e importación de Organismos Marinos Genéticamente Modificados (OMGM) debe ser implementadas y mejoradas con un claro enfoque proactivo que abarque en lo posible todas las alternativas factibles en cuanto a los requisitos y protocolos del proceso de investigación, pruebas de campo, cultivo y comercialización, con sistemas de control que verifiquen el fiel cumplimiento de los respectivos reglamentos y disposiciones legales.

En primer lugar, se deben clarificar las definiciones aceptadas internacionalmente respecto a los OGM dado que en la poca normativa vigente en Chile hay una tendencia a considerar como sinónimos a los OGMs y los organismos transgénicos, sin tomar en cuenta que además de los organismos transgénicos, hay otras alternativas de OGMs, como por ejemplo los organismos poliploides y organismos editados, entre otros.

Una revisión de leyes, decretos y resoluciones relacionados con el tema de la modificación genética aplicada a la agricultura y acuicultura en Chile, según la base de datos de la Biblioteca del Congreso, indica los siguientes cuerpos legales vigentes:

- i) Decreto 430/1992 (Ley General de Pesca y Acuicultura)
- ii) Ley 19.300/1994 (Ley de Bases Generales del Medio Ambiente);
- iii) Ley 19.496/1997 (Protección de los Derechos del Consumidor),
- iv) Resolución N° 3.970 de 1997 (Establece la autorización para consumo animal de maíz transgénico con modificación (BT) y resistente a Glufosinato).

- v) Resolución 3.136/1998 (Fija las normas de bioseguridad para productos farmacéuticos que contienen OGM).
- vi) Resolución N° 1.523 de 2001 (Normas para la internación e introducción al medio ambiente de organismos vegetales vivos modificados de propagación).
- vii) Resolución N° 1.248 de 2013 (Autoriza a la soya para consumo animal (MON 89788)).
- viii) Resolución N° 3.928/2015 (Crea el Comité Técnico de Organismos Genéticamente Modificados dentro del Ministerio de Agricultura).
- ix) Resolución N° 6183 de 2018, (Fija tiempos estándares para la internación e introducción al medio ambiente de organismos vegetales genéticamente modificados).
- x) Protección del Patrimonio Genético y de la diversidad Biológica. Boletín N° 6867-12

De listado anterior se puede observar que con excepción de las leyes específicas, la legislación vigente se refiere generalmente sólo a organismos vegetales, lo cual realza la necesidad de fijar los criterios de una normativa específica para los Organismos Genéticamente Modificados Hidrobiológicos (OGMH) que sean objeto de importación o producción local para sus cultivos comerciales en Chile.

EJEMPLOS DE NORMATIVAS EXTRANJERAS SOBRE OGMs.

1. CASO DE MÉXICO

En México, la “Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados (Ley OGM)” es el cuerpo legal federal que entrega las reglas sobre la investigación, liberación, comercialización, exportación e importación de OGMs, y aspira a prevenir, evitar o reducir los riesgos asociados que dichas actividades puedan causar a la salud humana, el ambiente, la diversidad biológica, o la salud de plantas y animales. La mencionada ley indica que se entiende como OGMs a “cualquier organismos vivo (con excepción de los seres humanos) que han adquirido una combinación genética nueva generadas a través de uso de técnicas modernas de biotecnologías, reconocidas como tales por la “Ley de OGM” y sus regulaciones”.

El Gobierno Mexicano ha establecido una “Red Nacional de Laboratorios de Detección, Identificación y Cuantificación de OGMs”, para realizar investigaciones en OGMs y entregar a

las autoridades mexicanas con información técnica necesaria para determinar si estos organismos presentan riesgos para bioseguridad en México.

En la situación de una petición de liberación de OGMs al medio natural, se debe realizar en forma previa un estudio de riesgos, materia que le compete al Departamento de Medio Ambiente y Agricultura; mientras que el uso de OGMs para el consumo humano requiere la aprobación del Departamento de Salud.

La Ley Federal de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados tiene por finalidad regular las actividades de utilización, confinada, liberación experimental, liberación en programa piloto, liberación comercial, comercialización, importación y exportación de organismos genéticamente modificados, con el fin de prevenir, evitar o reducir los posibles riesgos que estas actividades pudieran ocasionar a la salud humana o al medio ambiente y a la diversidad biológica o a la sanidad animal vegetal y acuícola.

El cumplimiento de los objetivos de esta ley, es controlado por la “Comisión Intersecretarial de Bioseguridad y Organismos Genéticamente Modificados” (CIBIOGEM) dependiente del Consejo Nacional de Ciencias y Tecnologías (CONACYT). Esta comisión establece las políticas relacionadas a la seguridad de la biotecnología y el uso de los Organismos Genéticamente Modificados. La comisión se encuentra integrada por los titulares de las secretarías de Agricultura (SAGARPA), Medio Ambiente (SEMARNAT), Salud, y Educación (SEP), Hacienda (SHCP), y Economía (SE), así como por el Director General del CONACYT.

La CIBIOGEM cuenta además, con organismos asesores, tales como:

a) Consejo Consultivo Científico. Es “un órgano de consulta obligatoria de la propia en aspectos técnicos y científicos en biotecnología moderna y bioseguridad de OGMs. Está integrado por un conjunto de expertos en diferentes disciplinas, provenientes de centros, instituciones de investigación, academia o sociedades científicas de reconocido prestigio que ejercen su función a título personal con independencia de la institución, asociación o empresa de la que formen parte o en la que presten sus servicios”.

b) Consejo Consultivo Mixto. Funciona como “órgano auxiliar de consulta y opinión de la propia CIBIOGEM. Estará integrado por representantes de asociaciones, cámaras o empresas de los sectores privados, social y productivo. Su principal función es conocer y opinar sobre los aspectos sociales, económicos, y otros aspectos relativos a las políticas regulatorias y de fomento,

así como sobre las prioridades en la normalización y mejoramiento de trámites y procedimientos en materia de bioseguridad de los OGMs”.

2. CASO ARGENTINA

Argentina fue uno de los primeros países en el mundo en usar organismos genéticamente modificados en la agricultura, mediante el uso de técnicas de modificación genéticas en 1996. Si bien Argentina firmó el Protocolo de Cartagena en 2000, aún no lo ratifica para poner en acción las disposiciones de dicho protocolo que adopta el “principio precautorio” para restringir o prohibir la importación de OGMs si no hay suficiente información conclusiva respecto a su seguridad.

En Argentina, los OGMs están regulados por la “Ley de Semillas y Creaciones Fitogenéticas” (Ley 20247) publicada en 1973 y la “Ley de Promoción del Desarrollo y Producción de la Biotecnología Moderna” (Ley 20270) de 2007. La Ley 20247 establece la “Comisión Nacional de Semillas” dentro del Ministerio de Agricultura y Ganado, como la autoridad emponderada para determinar que especies serán sujetas a control y su registro bajo la ley mencionada. También, establece una “Registro Nacional de Semillas” sobre qué semillas pueden ser sembradas. La Resolución 46/2004 sobre Organismos Vegetales Genéticamente Modificados establece, adicionalmente, un “Registro Nacional de Operadores de Organismos Vegetales Genéticamente Modificados” para todos aquellos que realizan experimentos, importan o exportan, producen o reproducen, o llevan a cabo cualquier actividad relacionada con plantas genéticamente modificadas.

Respecto a las restricciones a la investigación, producción y comercialización de OGMs, la “Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos” es la encargada de conceder los permisos para liberar y comercializar los OGMs, con la asistencia de un comité de expertos asesores. La liberación de OGMs puede ser bajo condiciones de confinamiento o sin ellas.

Las actividades relacionadas con los OGM en Argentina, están normadas por la Secretaría de Alimentos y Bioeconomía del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, en base a que le corresponde a esta secretaría, el “Entender en la aprobación de eventos biotecnológicos y en la aplicación de los marcos regulatorios y políticas relativas a los productos biotecnológicos, y en

particular en el otorgamiento de las autorizaciones de liberación al medio y comercialización de productos biotecnológicos para el uso agropecuario”.

En base a numerosas resoluciones previas indicadas en los considerandos, la Resolución 63/19 indica, que:

“**Artículo 1º.**- Establécense los procedimientos para determinar el alcance del marco regulatorio de los Organismos Genéticamente Modificados animales y de material biológico animal GM con capacidad reproductiva, respecto de nuevas técnicas de mejoramiento que utilicen biotecnología moderna y la acumulación de eventos biotecnológicos, con base en el asesoramiento caso por caso de la COMISIÓN NACIONAL ASESORA DE BIOTECNOLOGÍA AGROPECUARIA (CONABIA).

Art. 2º.- Establécense los procedimientos para el análisis de riesgo que realiza la CONABIA respecto de los Organismos Genéticamente Modificados animales, como uno de los requisitos previos para solicitar la autorización comercial de los mismos.

Art. 3º.- Apruébase el “REGLAMENTO PARA ESTABLECER EL ALCANCE DEL MARCO REGULATORIO Y PARA REALIZAR EL ANÁLISIS DE RIESGO DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS ANIMALES” que como Anexo I, registrado con el N° IF-2019-72795064-APN-DB#MPYT, forma parte integrante de la presente medida.

Art. 4º.- Apruébase la “SOLICITUD DE ANÁLISIS DE RIESGO DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS ANIMALES” que como Anexo II, registrado con el N° IF-2019-72794829-APN-DB#MPYT, forma parte integrante de la presente medida.

Art. 5º.- La Dirección de Biotecnología de la SECRETARÍA DE ALIMENTOS Y BIOECONOMÍA del MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA será la Autoridad de Aplicación de la presente medida, encontrándose facultada para dictar por medio de disposiciones las normas reglamentarias, complementarias e interpretativas que resulten menester.

Art. 6º.- El incumplimiento de lo normado por la presente resolución dará lugar a la adopción de las medidas contempladas en los Artículos 7º y 8º de la Resolución N° 763 de fecha 17 de agosto de 2011 del ex-MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA.

Art. 7º.- La presente resolución comenzará a regir a partir del día siguiente al de su publicación en el Boletín Oficial.”

Cabe mencionar que la resolución mencionada, a diferencia de otras similares para los efectos de la regulación de los OGM, menciona específicamente dentro del ámbito de su jurisprudencia a los Organismos Animales Genéticamente Modificados, pero sin diferenciar si corresponden a los terrestres o a los hidrobiológicos (Resolución N° RESOL-2017-79-APN-SECAV#MA). Además, menciona las diferentes reparticiones gubernamentales federales que participan en la ejecución y control de la normativa mencionada.

3. CASO DE LA UNIÓN EUROPEA

La Unión Europea controla el uso y actividades con organismos genéticamente modificados, mediante dos directivas principales: i) Directiva 2009/41 que se refiere a la utilización confinada de microorganismos genéticamente modificados y ii) la Directiva 2001/18/CE que trata de la liberación intencional en el medio ambiente de organismos genéticamente modificados. Ambas directrices derogan directivas anteriores, la 90/219/CEE y la 90/220/CEE, respectivamente. Pero, los avances del conocimiento de los OGM y desarrollo de nuevos procesos biotecnológicos han obligado a la adaptación y modificación de dichas directivas básicas. Es así como el Reglamento 1830/2003 sobre la trazabilidad y el etiquetado de OGM, y la trazabilidad de los alimentos y piensos producidos a partir de éstos, modifica la Directiva 2001/18/CEE; mientras que la nueva Directiva (UE) 2015/412 referida a la posibilidad que los Estados miembros restrinjan o prohíban el cultivo de OGM en su territorio, modifica la Directiva 2001/18/CEE.

Entre la legislación de la Unión Europea más relevante sobre los OGM, destacan:

- Reglamento 258/97, del Parlamento Europeo y el Consejo, de 27 de enero de 1997, sobre nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios.
- Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre de 2000, referente a las notas de orientación para la evaluación del riesgo descrita en el anexo III de la Directiva 90/219/CEE relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.

- Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de marzo de 2001, sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente.
- Decisión del Consejo 2001/204/CE, de 8 de marzo de 2001, por la que se completa la Directiva 90/219/CEE con respecto a los criterios por los que se establece la inocuidad de los microorganismos modificados genéticamente para la salud humana y el medio ambiente.
- Decisión de la Comisión 2002/623/CE, de 24 de julio de 2002, por la que se establecen unas notas de orientación complementarias al anexo II de la Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente.
- Decisión del Consejo 2002/811/CE, de 3 de octubre de 2002, por la que se establecen unas notas de orientación complementarias al anexo VII de la Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente.
- Decisión del Consejo 2002/812/CE, de 3 de octubre de 2002, por la que se establece, de conformidad con la Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, el modelo de resumen de la notificación de la puesta en el mercado de organismos modificados genéticamente como producto o componente de productos.
- Decisión del Consejo 2002/813/CE, de 3 de octubre de 2002, por la que se establece, de conformidad con la Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, el modelo de resumen de la notificación de la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente para fines distintos de su puesta en el mercado.
- Decisión de la Comisión 2003/701/CE, de 29 de septiembre de 2003, por la que se establece un modelo para la presentación de los resultados de la liberación intencional en el medio ambiente de plantas superiores modificadas genéticamente con una finalidad distinta de la de su comercialización con arreglo a la Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.
- Reglamento 1829/2003, de 22 de septiembre de 2003, sobre alimentos y piensos modificados genéticamente.

- Reglamento 1830/2003, de 22 de septiembre de 2003, relativo a la trazabilidad y al etiquetado de organismos modificados genéticamente y a la trazabilidad de los alimentos y piensos producidos a partir de éstos, y por el que se modifica a la Directiva 2001/18/CE.
- Reglamento 1946/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de julio de 2003, relativo al movimiento transfronterizo de OGMs.
- Reglamento 65/2004 de la Comisión, de 14 de enero de 2004, por el que se establece un sistema de creación y asignación de identificadores únicos a los organismos modificados genéticamente.
- Decisión de la Comisión 2004/204/CE, de 23 de febrero de 2004, por la que se establecen las disposiciones pormenorizadas de funcionamiento de los registros para la recogida de la información relativa a las modificaciones genéticas de los OGM, previstos por la Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.
- Reglamento 641/2004 de la Comisión, de 6 de abril de 2004, sobre las normas de desarrollo del Reglamento (CE) 1829/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, en lo relativo a la solicitud de autorización de nuevos alimentos y piensos modificados genéticamente, la notificación de productos existentes y la presencia accidental o técnicamente inevitable de material modificado genéticamente cuya evaluación de riesgo haya sido favorable.
- Recomendación de la Comisión 2004/787/CE, de 4 de octubre de 2004, relativa a las directrices técnicas de muestreo y detección de organismos modificados genéticamente y de material producido a partir de organismos modificados genéticamente, como productos o incorporados a productos, en el marco del Reglamento (CE) no 1830/2003
- Decisión de la Comisión 2005/174/CE, de 28 de febrero de 2005, por la que se establecen notas de orientación complementarias de la parte B del anexo II de la Directiva 90/219/CEE del Consejo, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.
- Reglamento 1981/2006 de la Comisión, de 22 de diciembre de 2006, sobre las normas de desarrollo del artículo 32 del Reglamento (CE) 1829/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, en lo relativo al laboratorio comunitario de referencia para los organismos modificados genéticamente.

- Directiva 2008/27/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 11 de marzo de 2008, que modifica a la Directiva 2001/18/CE sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente.
- Directiva 2009/41/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de mayo de 2009, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.
- Decisión de la Comisión 2009/770/CE, de 13 de octubre de 2009, que establece los modelos normalizados para la presentación de los resultados del seguimiento de la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente, como productos o componentes de productos, para su comercialización, de conformidad con la Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.
- Recomendación de la Comisión 2010/CE 200/01, de 13 de julio de 2010, sobre directrices para el desarrollo de medidas nacionales de coexistencia destinadas a evitar la presencia accidental de OMG en cultivos convencionales y ecológicos
- Reglamento de ejecución (UE) n° 503/2013 de la Comisión, de 3 de abril de 2013, relativo a las solicitudes de autorización de alimentos y piensos modificados genéticamente de conformidad con el Reglamento (CE) n° 1829/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo y por el que se modifican el Reglamento (CE) n° 641/2004 y el Reglamento (CE) n° 1981/2006
- Directiva (UE) 2015/412 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 11 de marzo de 2015, por la que se modifica la Directiva 2001/18/CE en lo que respecta a la posibilidad de que los Estados miembros restrinjan o prohíban el cultivo de organismos modificados genéticamente en su territorio
- Decisión de ejecución (UE) 2016/321 de la Comisión, de 3 de marzo de 2016, por la que se adapta el ámbito geográfico de la autorización de cultivo del maíz (*Zea mays* L.) modificado genéticamente MON 810
- Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de marzo de 2001 sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente y por la que se deroga la Directiva 90/220/CEE del Consejo. Versión consolidada.

En algunos países miembros, la legislación de la Unión Europea sobre los OGM ha sido complementada además, por reglamentos o directrices específicas, de acuerdo a la situación que lo amerite.

4. CASO DE EL SALVADOR

La normativa para los OGM en este país está basada en el Decreto Presidencial N° 87 “REGLAMENTO ESPECIAL PARA EL MANEJO SEGURO DE LOS ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE” publicado el 01/07/2008. Dicho decreto indica:

“Del Objeto

Art. 1. El objeto del presente Reglamento es establecer las normas de seguridad a las que habrá de sujetarse las variedades resultantes de la acción humana mediante la biotecnología moderna, supervisando su empleo, a fin de minimizar el impacto adverso sobre la diversidad biológica nativa, tomando en cuenta la salud humana. Ninguna de las disposiciones del presente Reglamento son aplicables al manejo genético o producción de Organismos Humanos Modificados Genéticamente.

Ámbito de Aplicación

Art. 2. Las normas del presente Reglamento serán aplicables a las actividades, proyectos o industrias de biotecnología moderna que impliquen movimientos transfronterizos, transferencia, tránsito, manejo genético y producción de Organismos Modificados Genéticamente; así como al empleo seguro de Organismos Modificados Genéticamente de uso agropecuario.

De la Autoridad Competente y el Centro Focal Nacional.

Art. 3. La aplicación del presente Reglamento Especial es competencia del Ministerio de Agricultura y Recursos Naturales (MARN) institución que también funcionará como el Centro Focal Nacional y Enlace Nacional con la Secretaría Ejecutiva para el Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica. Sin perjuicio a lo dispuesto en el presente Reglamento, los Ministerios de Salud Pública y Asistencia Social y de Agricultura y Ganadería, aplicarán según corresponda, las regulaciones en materia sanitaria y fitosanitaria, producción y comercio de semillas y plaguicidas, así como las referentes a la salud

humana e inocuidad de alimentos, establecidas en la legislación nacional y en los tratados y convenios internacionales.

Del apoyo y la coordinación del MARN con otras instituciones especializadas

Art. 4. A efecto que el MARN cuente con el apoyo de instituciones especializadas, de conformidad al Art. 68 de la Ley, se conformará un Comité Científico sobre Seguridad de la Biotecnología, en adelante "el Comité Científico", con carácter asesor, integrado por representantes de los sectores público, privado y académico-científico, que fungirá como órgano auxiliar de consulta y opinión de los Ministerios de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Agricultura y Ganadería y Salud Pública y Asistencia Social; cuya organización y funcionamiento serán establecidos por medio de Acuerdo Ejecutivo conjunto de los Ramos antes mencionados. Los miembros del comité Científico deberán tener conocimientos científicos sobre seguridad de la biotecnología y en el desarrollo de sus actividades deberán tomar en cuenta la Política Nacional del Medio Ambiente, la Estrategia Nacional del Medio Ambiente, los principios y normas que establezca el Sistema Nacional de Gestión del Medio Ambiente (SINAMA) que le fueren aplicables y las Políticas Nacionales de cada uno de los Ministerios antes mencionados”.

5. CASO DE ESTADOS UNIDOS

En el caso de los Estados Unidos de Norte América, todas las materias referidas a los OGMs están reguladas por la Food and Drug Administration (FDA) que depende del Departamento de Salud y Servicios Sociales, mediante la FDA “Guidance” publicadas en enero de 2009, de acuerdo a los estándares establecidos por el Codex Alimentarius aprobados en junio de 2008 por la Unión Europea. Según el Marco de Coordinación para la Regulación de la Biotecnología, establecido en 1986, la FDA debe coordinar su acción con la Agencia de Protección Ambiental (EPA) y el Departamento de Agricultura (USDA) para garantizar que los OGM sean seguros para la salud humana, vegetal y animal, como los no OGM; además, esta misma agencia deben velar por el potencial riesgo del impacto ambiental de los OGM.

Específicamente, en el caso de los animales OGMs se aplica el Federal Food, Drug and Comestic Act (FFDCA) que establece que el proceso de aprobación, debe incluir las fases de: i) definición del producto, ii) características moleculares de rDNA del animal y su linaje, iii) datos

comprendidos de las características del animal y su salud; iv) seguridad para el consumo humano, v) demostraciones de la efectividad, y vi) impacto ambiental.

6. CASO CANADA

En Canadá, la legislación sobre materia de aplicaciones biotecnológicas está regulada por un marco referencial que asume que los productos biotecnológicos no son diferentes de los productos convencionales y por lo tanto no requieren de una legislación especial; posición similar a la adoptada por Estados Unidos.

El Canadian Biotechnology Advisory Committee (CBAC) (Comité Asesor de Biotecnología de Canadá) es un comité experto independiente creado por el Gobierno de Canadá en 1999 para asesorarlo en la formulación de políticas públicas en materias de biotecnologías, a través del Biotechnology Ministerial Coordinating Committee (BMCC)(Comité Ministerial de Coordinación de Biotecnología) formado por los ministerios de Industrias, Agricultura y Agronomía, Salud, Ambiente, Pesquerías y Océanos, Recursos Naturales, y Comercio Internacional.

En su misión, el CBAC contempla dos aspectos que cabe destacar: i) el amplio rango de materias que deben ser consideradas en la evaluación de riesgos de la biotecnología, incluyendo los éticos, sociales y económicos; además de la salud y ambientales; y ii) considerar la participación ciudadana en la evaluación de riesgos. Sin embargo, existen críticas de la real independencia del CBAC, dada su estrecha relación con el Ministerio de Industrias.

7. CASO DE NUEVA ZELANDA

En Nueva Zelanda, país considerado líder en las discusiones y resoluciones ambientales, la importación, desarrollo, evaluación y liberación en el ambiente, están rigurosamente reguladas bajo la supervisión de la “Environmental Protection Authority”. Actualmente, no hay cosechas comerciales de OGMs, ni tampoco está permitido la venta de productos frescos y carnes que hayan sido genéticamente modificadas. Algunas técnicas de modificación genética han sido aprobadas para uso, pero en muy específicas áreas de investigación en ambientes controlados (e.g., control de plagas, industria farmacéutica, producción animal).

La importación, desarrollo, pruebas de terreno y liberación de nuevos organismos, incluyendo los OGMs, son reguladas por la “Hazardous Substances and New Organisms Act” (HSNO Act) publicada en 1991. En 2003, este cuerpo legislativo fue modificado para incluir aspectos legales sobre la liberación condicional de OGMs, responsabilidad civil y un régimen de penalidades pecunarias. Estas modificaciones fueron el resultado de las recomendaciones de la “Royal Commission on Genetic Modification” establecida en 2000. La conclusión más relevante de esta comisión fue que Nueva Zelanda debería proceder con mucha cautela con las modificaciones genéticas, pero no cerrar completamente la puerta a esta materia.

Respecto a la gobernanza sobre los OGMs, la legislación pertinente ha sido implementada bajo las reglas del “Resources Management Act” publicada en 1999 y reconocida como el núcleo central de la legislación ambiental en Nueva Zelanda que tiene cobertura nacional, pero hay discusión vigente sobre si los gobiernos locales podrían imponer un enfoque más restrictivo sobre la liberación de OGMs en sus respectivos territorios administrativos o jurisdiccional.

La “Hazardous Substances and New Organisms Act” es administrada por el Ministerio del Medio Ambiente, mientras que la “Environmental Protection Authority (EPA)” es responsable de implementar las provisiones referidas a la aplicación y proceso de evaluación de nuevos organismos.

Además del HSNO Act y los instrumentos reguladores complementarios, otros cuerpos legales que tienen pertinencia en el control de los OGMs, son:

- a) El “Biosecurity Act 1993” que se refiere a la exclusión, erradicación y control de plagas y otros organismos indeseados en Nueva Zelanda, incluyendo lo relacionados a la importación y control fronterizo y liberación de OGMs.
- b) El “Australia New Zealand Food Safety Code” aplicable en Nueva Zelanda bajo el “Food Act 1981” que establece que cualquier alimento que es genéticamente modificado o material genéticamente modificado, debe ser aprobado por el “Food Standard Australia New Zealand”, y estar claramente etiquetado.
- c) El “Animal Welfare Act 1999” que regula el uso de animales en investigación y ensayos, que requiere que cada proyecto sea aprobado y monitoreado por un comité de ética y conducidos por organizaciones que siguen los códigos de conducta ética aprobados.

- d) El “Agricultural Compounds and Veterinay Medicine Act 1997” y el “Medicine Act 1981” que también tienen algunas restricciones de relevantes para la importación, manufactura, venta y uso de compuestos medicinales que contengan OGMs.

Un aspecto importante en la legislación sobre OGMs en Nueva Zelanda, son las restricciones para la liberación de organismos al ambiente que establecen que cualquiera aprobación para desarrollar o realizar pruebas en terreno de nuevos organismos debe incluir controles que verifiquen el cumplimiento las materias indicadas en el Schedule 3 del HSNO Act. Bajo estos requerimientos, el HSNO Act establece los estándares mínimos para que EPA pueda rechazar las solicitudes para trabajar con nuevos organismos, si el nuevo organismo podría:

- a) Causar algún tipo de desplazamiento significativo de cualquier especie nativa dentro de su hábitat natural,
- b) Causar cualquier alteración negativa significativa del hábitat natural,
- c) Causar cualquier efecto adverso en la salud y seguridad humana,
- d) Causar cualquier efecto adverso a la diversidad genética endémica de Nueva Zelanda,
- e) Causar enfermedades, ser parásito, o llegar a ser un vector para enfermedades humanas, animales o plantas, al menos que el propósito de la importación o liberación es importar o liberar un organismo para causar enfermedades, ser parásito o un vector de enfermedades.

Otra materia de relevancia en la legislación sobre OGMs en Nueva Zelanda, son las restricciones del uso de OGMs en las materias primas para alimentos. Para ser vendido en Nueva Zelanda, cada alimento genéticamente modificado o ingrediente usado como materia prima en la industria de alimentos debe ser evaluado por la “Food Standard Australia New Zealand (FSANZ) y determinada que es segura para consumo, después de ser aprobada por FSANZ Board y por todos los ministerios de Australia y Nueva Zelanda responsables de la regulación de alimentos. En especial, el estándar 1.5.2-Food Produced Using Gene Technology” contiene las regulaciones para alimentos conteniendo OGM y enumera los ingredientes que han sido aprobados.

Un aspecto que destaca en la legislación de Nueva Zelanda sobre los OGMs, es que en la estricta y extensa regulación vigente para el uso de OGM, no se establece por el momento,

una diferencia en la legislación si los OGMs son de origen vegetal, animal, silvestrados o cultivados, o si son endémicos o importados.

8. CASO DE COREA DEL SUR

Corea del Sur firmó el “Protocolo de Cartagena” en 2000 pero lo ratificó recién en 2007. Para implementar el Protocolo de Cartagena, se publicó el “Act on Transboundary Movements of Living Organisms and Other Related Matters (LMO Act)” en 2001 comenzando a ser efectivo desde 2008. El “LMO Act” aspira a mejorar las condiciones de vida de la gente mediante la protección de la salud pública y la conservación y el uso sustentable de la biodiversidad de cualquier efecto negativo inducido por organismos genéticamente modificados. Sin embargo, este cuerpo legislativo no se aplica en el caso de OGMs usados como medicina en el cuerpo humano.

Actualmente, como en muchos otros países no hay un consenso social y político respecto a la seguridad de los OGMs respecto a su cultivos o en el consumo humano. Sin embargo, a pesar que en Corea del Sur hay una activa investigación científica sobre los OGMs, no están permitidos sus cultivos dentro del país.

Respecto a la legislación sobre OGMs, en 1983 se publicó el “Biotechnology Support Act” con el propósito de promover el desarrollo de la biotecnología en el ámbito científico y productivo, siendo la primera legislación que implementó medidas de protección de potenciales riesgos en la aplicación de las nacientes nuevas tecnologías de biología molecular y celular. Con la firma del Protocolo de Cartagena y la publicación del “LMO Act” en 2001, todas las materias sobre los OGMs en Corea del Sur quedaron bajo la regulación del “LMO Act”. Aún más, en 2007 se publicó “The Unified Enforcement Regulation Act”. Esta regulación de refuerzo unificada entrega detalladas medidas técnicas para implementar el “LMO Act”.

La legislación coreana estable dos instancias superiores referidas a los OGMs en dicho país. El “Ministry of Trade, Industry and Energy (MOTIE)” que es la autoridad nacional competente responsable de la regulación de los OGMs en el sector industrial a través de un “Biosafety Committee”; mientras que el “Ministry of Foreign Affairs (MOFA) es el punto

focal nacional para las relaciones internacionales. Sin embargo, hay otros ministerios que también tienen participación en las medidas del uso de OGMs en el país. Ellos son:

- a) Ministry of Science, Information, Communication, Technology & Future Planning (MSIP), en materias de investigación y desarrollo;
- b) Ministry of Health & Welfare (MHW), en materias de las facilidades para las investigaciones de OGMs relacionadas con la salud y sectores de medicina;
- c) Ministry of Environment (ME), en materias ambientales relacionadas con los OGMs;
- d) Ministry of Agricultural, Food & Rural Affairs (MAFRA), en materias de la aplicación de OGMs en la agricultura, industrias forestales, sectores de la producción animal y mejoramiento de la salud animal;
- e) Ministry of Ocean & Fisheries (MOF), en materias de los OGMs en el océano y cuerpo de aguas interiores; y
- f) Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), en materias relacionadas con alimentos, medicina y equipamientos médicos.

En el “Agriculture Act” se define a los productos agrícolas o marinos genéticamente modificados como “producto agrícola o marino que contiene características específicas logradas mediante la separación artificial o recombinación de genes”; mientras que en el “Food Sanitation Act” se define como un alimento modificado genéticamente todo producto que es obtenido o procesado con materias primas que son cultivadas con las tecnologías para materiales de recombinación genética.

Las solicitudes de importación de OGMs para liberación en el ambiente deben recibir la aprobación de la autoridad central que es el Ministry of Trade, Industry and Energy (MITIE), en el caso que correspondan a:

- a) OGMs obtenidos usando microorganismos para los cuales la capacidad patogénica en la salud humana sea desconocida y no se conoce su taxonomía,
- b) OGMs que tengan la capacidad de producir toxinas para los vertebrados,
- c) OGMs intencionalmente introducidos con un gen resistente a drogas,

- d) OGMS obtenidos usando microorganismos patogénicos que requieren del control del estado debido a las preocupaciones públicas.

Por otra parte, la bioseguridad de los OGMs es determinada bajo los estándares del “Food Sanitation Act” y sus riesgos evaluados de acuerdo al “LMO Act”, pero no existe regulación que establezca medidas de culpabilidad y compensación de posibles daños sufridos por exposición a los OGMs.

CONCLUSIONES

Con la información detallada anteriormente sobre algunos casos de normativas y controles del uso de los organismos genéticamente modificados en países líderes en la materia, se pueden concluir lo siguiente:

- a) El uso y aplicación de Organismos Genéticamente Modificados (OGMs) con objetivos productivos y su posterior comercialización para consumo humano en sus diversas alternativas, es una materia de gran preocupación en la sociedad actual y no tiene actualmente un pleno consenso económico-social-político en ningún país.
- b) La legislación sobre OGMs ha tenido un fuerte crecimiento a partir de 2000 con la adaptación del “Protocolo de Cartagena” que aspira a establecer una norma de aceptación mundial sobre esta materia.
- c) La mayoría de las legislaciones vigentes sobre OGMs, está referidas sólo a organismos vegetales, dada la relevancia de la agricultura en la producción de alimentos para uso humano o animal pecuario, existiendo un notable vacío en los referentes a los organismos acuáticos.
- d) Por lo anterior, existe un incipiente interés de establecer normativas sobre OGMs de origen acuático, ya sea marinos o dulceacuícolas, en función del crecimiento de la acuicultura en el aporte de alimentos para consumo humano.
- e) Dependiendo del organigrama de la estructura gubernamental y legislación respectiva, las autoridades competentes en esta materia en cada país son diversas y no existe un modelo específico común.

- f) A nivel ministerial, se mencionan con mayor frecuencia los ministerios de agricultura, de alimentos, de pesquerías, de salud, y del medio ambiente.
- g) Existe un claro consenso que todas las materias y discusiones referidas a los Organismos Genéticamente Modificados, desde la investigación científica hasta su aplicación y uso en beneficio humano, deben ser analizadas con el máximo de rigurosidad científica en cuanto a los riesgos implícitos en su aplicación.

PROPUESTA DE GOBERNANZA Y ESTRUCTURA GUBERNAMENTAL PARA LOS ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS HIDROBIOLÓGICOS EN CHILE

Según la legislación vigente en Chile, se puede observar que existen actualmente varios ministerios del Estado que eventualmente coparticipan en la normativa de los OGM, tales como:

- i) el Ministerio de Salud
- ii) Ministerio de Economía, Fomento y Turismo
- iii) Ministerio del Medio Ambiente, y
- iv) Ministerio de Agricultura

lo cual podría crear una situación de superposición y duplicación de funciones que es necesario aclarar y definir claramente para evitar confusiones y fallas de los protocolos respectivos.

Por el momento, el único organismo regulador para los efectos del uso de los OGM en Chile, es el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) que depende del Ministerio de Agricultura y es la única entidad responsable de establecer las normas y procedimientos para la importación y liberación de OGM vegetales bajo condiciones reguladas de bioseguridad (Res. 1.523/2001). Sin embargo, por su dependencia administrativa, las competencias del SAG en el tema de los OGM, a través del “Comité Técnico de Organismos Genéticamente Modificados” son hasta ahora sólo vigentes respecto a organismos vegetales, pero bien podría ser tomada como modelo de referencia para establecer una normativa similar para los Organismos Genéticamente Modificados Hidrobiológicos.

Se debe mencionar que durante el desarrollo del presente proyecto, hubo una propuesta de parte del Gobierno (Boletín N° 13218 de enero 2020) para consolidar bajo una misma cartera ministerial todo lo referente a la producción de alimentos de origen terrestre y marinos, con la creación de un nuevo “Ministerio de Agricultura, Alimentos y Desarrollo Rural”. Este ministerio contemplaba dos subsecretaría, una de Agricultura, Alimento y Desarrollo Rural“ y otras de “Pesca y Acuicultura”. Sin embargo, frente al amplio rechazo de varios sectores laborales, industriales y políticos a esta iniciativa en las primeras discusiones en el Congreso, el Gobierno determinó retirar esta propuesta, sin llegar a un análisis más profundo.

Por la situación anterior, la Res. Ex. N° 3928/2015 de la Dirección Nacional del Servicio y Ganadero (SAG) respecto a la creación del Comité Técnico de Organismos Genéticamente Modificados y su Secretaría Técnica, sigue siendo la única vigente en la actualidad en esta materia, indicando entre sus considerandos, que:

- i) “Que es función del SAG establecer los requisitos que deben cumplir los materiales vegetales de propagación y productos farmacéuticos de usos veterinario que involucren a OGM, desarrollados tanto en el extranjero como en el país, así como evaluar y resolver solicitudes de autorización presentadas ante el Servicio” y,
- ii) “Que por Resolución Exenta N° 6.966, citada en los vistos, se estableció el Comité Técnico de Organismo Genéticamente Modificados (CTOGM), como instancia asesora en estas materias y su Secretaría Técnica a cargo de coordinar la evaluación de riesgos de estos productos”

Cabe mencionar que el primer considerando mencionado anteriormente, indica textualmente: “los materiales vegetales de propagación y productos farmacéuticos de uso veterinario que involucren a OGM”; lo que no se refieren a productos que estén destinados para el consumo humano directo o indirecto, como seguramente será el caso de los OGM hidrobiológicos. Por lo tanto, en la futura normativa que se establezca, el uso de OGM hidrobiológico orientados al consumo humano, debe quedar claramente explícito, además de las aplicaciones farmacológicas.

Mientras que en el segundo de los considerandos mencionados, se menciona que la Res. Ex. N°6.966 establece las funciones del CTOGM como “instancia asesora” y las de la Secretaría Técnica, como “coordinar la evaluación de riesgos de estos productos”. Estas mismas funciones,

junto con otras que correspondan, debería ser las que asuman dichos entes jurídicos en la futura legislación sobre los OGM hidrobiológicos.

En base al análisis anterior y de acuerdo con la actual legislación vigente en Chile y las consideraciones anteriormente expuestas para el caso de los Organismos Genéticamente Modificados Hidrobiológicos (OGMH), las instituciones involucradas en la futura gobernanza de esta materia deben ser:

- a. Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, a través de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.
- b. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Ley 19.496) (Decreto 430).
- c. Ministerio de Salud. Instituto de Salud Pública (Res. 3136-1997; Norma 83).
- d. Ministerio del Medio Ambiente. (Ley 19.300)(Ley 20.417) (Decreto 40).
- e. Ministerio de Ciencias y Tecnologías.

Todos estos entes administrativos se coordinarían a través de una Secretaría Técnica, que dependerá de la actual Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, con función de coordinación de las evaluaciones de riesgos de solicitudes para investigar, importar, comercializar, producir/cultivar, o liberar Organismos Genéticamente Modificados Hidrobiológicos para el consumo humano o animal directo o indirecto y usos farmacológicos, ambos casos incluidos. La Secretaría Técnica coordinaría además las funciones de un Comité Técnico de Organismos Genéticamente Modificados Hidrobiológicos (CTOGMH) como asesor en materias que correspondan, según el organigrama institucional jerárquico indicado en la Figura 52.

Por lo tanto, el CTOGMH, será la entidad responsable de establecer las normas y procedimientos para la investigación, importación, cultivo, liberación y comercialización de OGMH bajo las condiciones reguladas de bioseguridad en Chile, como también formular políticas públicas sobre esta materia.

Tomando como modelo las funciones indicadas en la Res. Ex. N° 3928/2015, para la Secretaría Técnica de CTOGMH, éstas deben ser:

i) La Secretaría Técnica estará cargo de un Secretario Ejecutivo, nominado por el Subsecretario de Acuicultura, o el superior jerárquico que corresponda, con las responsabilidades y funciones siguientes:

- a. Gestionar las Reuniones del Comité Técnico
- b. Coordinar a los Grupos de Trabajo y Grupos Asesores que se constituyan y las actividades del Comité,
- c. Redactar las actas de las sesiones del Comité,
- d. Requerir a las unidades técnicas correspondientes los informes de avance y resultados de las evaluaciones de riesgo realizadas e informar al Comité.

ii) En cuanto al Comité Técnico de Organismos Genéticamente Modificados Hidrobiológicos (CTOGMH), se debería indicar que:

- a. Será presidido por el Subsecretario de Pesca y Acuicultura o quien lo subrogue.
- b. Estará constituido por:
 - Jefe División de Acuicultura de la Subsecretaria de Pesca y Acuicultura, o su representante.
 - Jefe División Jurídica de la Subsecretaria de Pesca y Acuicultura, o su representante.
 - Jefe División Medio Ambiente de la Subsecretaria de Pesca y Acuicultura, o su representante.
 - Representante de Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, profesional especialista en genética de organismos hidrobiológicos en acuicultura.
 - Representante del Ministerio de Ciencias y Tecnologías
 - Representante de la Sociedad Chilena de Acuicultura, especialista en genética de organismos hidrobiológicos en acuicultura, nominado por dicha sociedad.
 - Representante de la Sociedad Chilena de Genética, especialista en genética de organismos hidrobiológicos en acuicultura, nominado por dicha sociedad.
 - Representante del Comité Científico Técnico de Acuicultura, de la Subsecretaria de Pesca y Acuicultura.
 - Representante del sector productivo en acuicultura especialista en genética de organismos hidrobiológicos en acuicultura.

En cuanto a las funciones y atribuciones del CTOGMH, ellas serían:

- i. Podrá proponer al Subsecretario de Pesca y Acuicultura los cambios al marco regulatorio que sean necesarios para enfrentar nuevos desafíos que surgan por el avance biotecnológico.
- ii. Proponer las estrategias, directrices y lineamiento en materias relacionadas con OGMH e insumos derivados de éstos.
- iii. Asesorar y recomendar la posición oficial de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura en temas de OGMH relevantes de interés público y privado.
- iv. Analizar requerimientos de inversión tanto en recurso humanos, bienes y servicios e infraestructura relacionados con los programas de OGMH que desarrolle la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.
- v. Constituir grupos de trabajo y grupos asesores para analizar temas específicos en materias de OGMH, según sea necesario.
- vi. Recomendar acciones para el desarrollo de líneas de investigación específicas en tema de OGMH en Chile.
- vii. Las demás funciones que señale el Subsecretario de Pesca y Acuicultura.

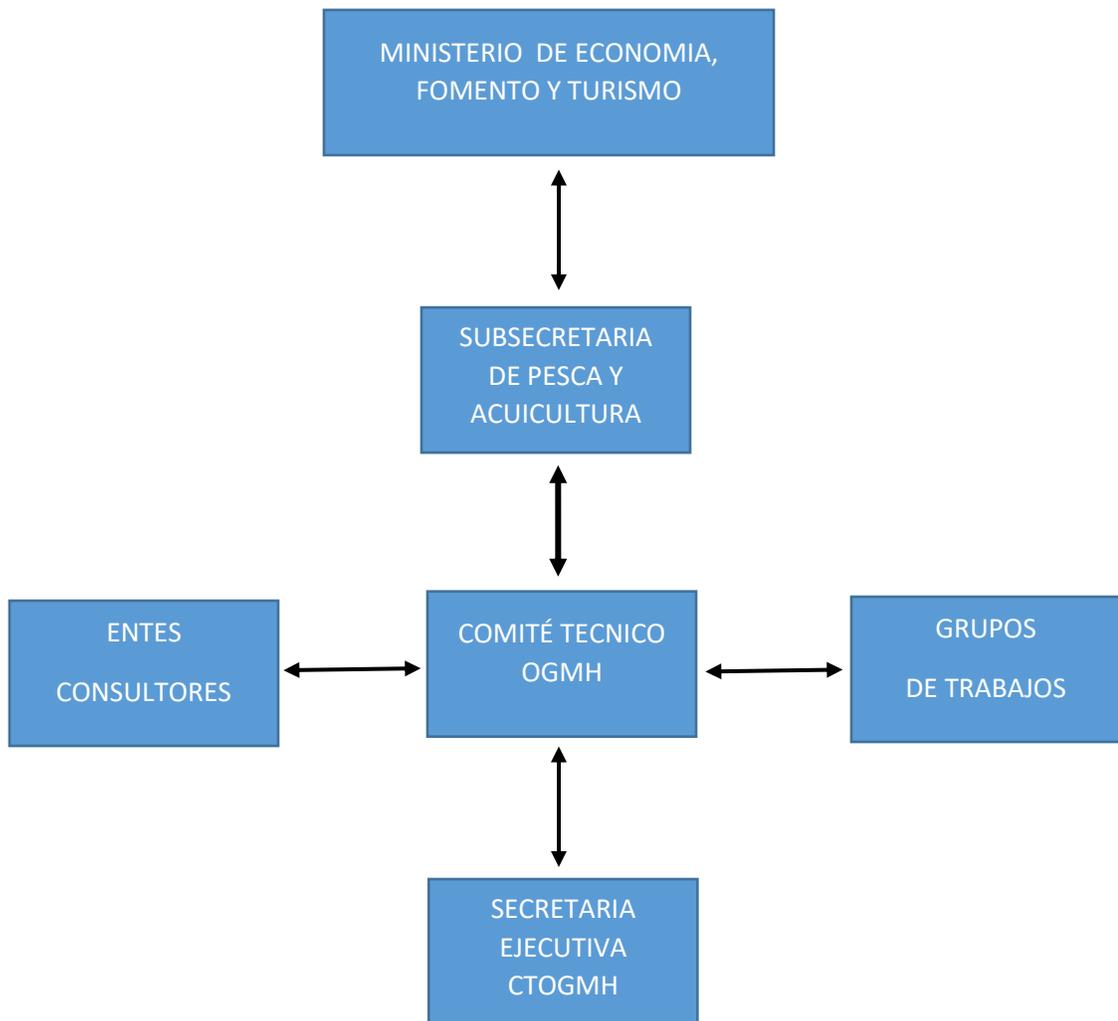


Figura 52. Propuesta de organigrama institucional jerárquico del Comité Técnico de Organismos Genéticamente Modificados Hidrobiológicos (CTOGMH) dentro del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo (Proyecto FIPA 2018-52).

REFERENCIAS

- ABARE (Australian Bureau of Agricultural and Resource Economics). 2003. Australian aquaculture industry profiles for selected species eReport 03.8, Commonwealth of Australia, Canberra.
- AFFA (Department of Agriculture, Fisheries and Forestry). 2002. Aquaculture Industry Action Agenda National Aquaculture Development Committee's Report to Government and Industry, Canberra.
- Aqua, 2019. Producción acuícola China supera 50 millones Toneladas <https://www.aqua.cl/2019/02/15/produccion-acuicola-china-supera-las-50-millones-toneladas/>
- Aquahoy, 2007. India: Desarrollan pez resistente a las bacterias. <https://www.aquahoy.com/no-categorizado/629-india-desarrollan-pez-resistente-a-las-bacterias>
- Araki M., & Ishii T. (2015). Towards social acceptance of plant breeding by genome editing. *Trends Plant Sci.*, 20, 145–149. 10.1016/j.tplants.2015.01.010
- Burachik, M. 2004. Organismos genéticamente modificados. Panorama General y Perspectivas: Bioseguridad, análisis de riesgos e inocuidad alimentaria. Proyecto Fodepal-FAO. 26 pp.
- Burachik. (2004). Organismos genéticamente modificados,. Panorama General y Perspectivas: Bioseguridad, Análisis de Riesgo e Inocuidad Alimentaria. Proyecto FODEPAL. 26 pp.
- Chapotin S. M., & Wolt J. D. (2007). Genetically modified crops for the bioeconomy: meeting public and regulatory expectations. *Transgenic Res*, 16, 675–688. 10.1007/s11248-007-9122-y
- CNA, 2018. Carta Nacional acuicultura. Gobierno de Mexico. <https://www.gob.mx/inapesca/acciones-y-programas/carta-nacional-acuicola>
- Einsele A. (2007). “The gap between science and perception: the case of plant biotechnology in Europe”, in *Green Gene Technology: Research in an Area of Social Conflict*, eds Fiechter A., Sautter C. (Heidelberg: Springer;). 10.1007/10_2007_055
- FAO. 2001. Los Organismos genéticamente modificados, los consumidores la inocuidad de los alimentos y el medio ambiente. <http://www.fao.org/3/x9602s/x9602s00.htm#TopOfPage>
- FAO. 2003. Ponderar el razonamiento sobre los OGM. Focus News.
- FAO. 2009. Desarrollo de la acuicultura. 3. Gestión de recursos genéticos. FAO Orientaciones Técnicas para la Pesca Responsable. No. 5, Supl. 3. Roma, FAO. 148p
- HLG-SAM (2017). New Techniques in Agricultural Biotechnology. Explanatory Note 02. Luxembourg: European Commission
- Lassoued, R., Hessel, H., Phillips, P. W. B., & Smyth, S. J. (2018). Top Plant Breeding Techniques for Improving Food Security: an expert Delphi survey of the opportunities and challenges. *Int. J. Biotechnol.*, 14(4). DOI: 10.1504/IJARGE.2018.097986

- Le curieux-Belfond, L.vandelac, J.Caron, G.Seralini. 2009. Factors to consider before production of commercialization of aquatic genetically modified organisms: the case of transgenic salmon. *Env. Science & Policy* 12: 170-189.
- LUKE, 2019. Estadísticas, Instituto Nacional de Recursos Naturales Finlandia <https://stat.luke.fi/en/uusi-etusivu>
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General Técnica. 2016. Estadísticas Pesqueras.
- Rosales Inzunza, S. & Acevedo Valerio, V. 2012. Reflexiones para el diseño de una política acuícola exitosa en México. *Región y sociedad*, 24(54), 63-9
- SalmonExpert. 2019. AquaBounty inicia producción comercial de Salmón transgénico. <https://www.salmonexpert.cl/article/aquabounty-inici-su-produccion-comercial-en-estados-unidos/>
- Scotto C. & R. Chuan. 2018. Cruzamiento y flujo génico de los transgenes de las proteínas fluorescentes roja (RFP) y verde (GFP) en el pez cebra transgénico (*Danio rerio*) introducido al Perú. *Scientia Agropecuaria* vol.9 no.3
- Sprague, M., Betancor, M.B., & Tocher, D.R. (2017). Microbial and genetically engineered oils as replacements for fish oil in aquaculture feeds. *Biotechnology Letters* volume 39, pages1599–1609.
- Sprink, T., Eriksson, D., Schiemann, J., & Hartung, F. (2016). Regulatory hurdles for genome editing: process- vs. product-based approaches in different regulatory contexts. *Plant Cell Rep.*, 35, 1493–1506. 10.1007/s00299-016-1990-2
- Vick, BM, Pollak, A., Welsh, C. y Liang, JO 2012. Aprendiendo el método científico usando GloFish. *Pez cebra*, 9 (4), 226–241. <https://doi.org/10.1089/zeb.2012.0758>

4.4 Realizar un diagnóstico de las perspectivas e interés público privado para realizar investigación, cultivo y comercialización con Organismos Genéticamente Modificados en la acuicultura chilena.

Para dar cumplimiento al objetivo y lograr establecer las perspectivas e interés público privado para realizar investigación, cultivo y comercialización con OGM en la acuicultura chilena se identificó a los actores involucrados en acuicultura, representantes del sector público, académicos y especialistas nacionales e internacionales en la materia.

En una primera fase, se recopiló información bibliográfica nacional e internacional que permitiera individualizar a investigadores que lideraran aspectos relativos a la investigación genética y de OGMH en acuicultura. Paralelamente, se revisó material de seminarios y documentación pública asociada a temas acuícolas para identificar las instituciones públicas, privadas del sector productivo, sector académico, así como personas naturales que fueran relevantes para considerar su participación tanto en la encuesta como en el Taller de trabajo. Se contaron directamente vía correo electrónico y teléfono a 111 personas. Para detalles ver Tabla 9, 10 y 11.

Tabla 9. Actores identificados por sector de interés y contactados para aplicación de encuesta e invitación a Taller, sector productivo, empresas biotecnológicas y de cultivo.

Empresa	Nombre	Correo electrónico
INTEMIT	Cristian Segura	jefedeproyectos@intemit.cl
Blue genomics spa	Matias Medina	matias.medina@bluegenomics.cl.
Hendrix genetics	Carlos Lobos Blumenfeldt	carlos.lobos@hendrix-genetics.com
BluMar Talcahuano	Fernanda Taboada	fernanda.taboada@blumar.com
	Rodrigo Gutiérrez	rodrigo.gutierrez@blumar.com
BluMar Pto Montt	Ángela Andrade	angela.andrade@blumar.com
Cupquelan	Jorge Uribe	jorge.uribe@cookeaqua.com
CaletaBay	Fernando Hinostraza	fhinostraza@caletabay.cl
	Carlos Montenegro	cmontenegro@caletabay.cl
	Renato González	rgonzalez@caletabay.cl
	Karla Ojeda	kojeda@caletabay.cl
Yadran	Gonzalo Palma Quas	gpalma@yadran.cl
Cermaq Chile	Evelyn Ponce	evelyn.ponce@cermaq.com
Multiexportfoods	Claudina González	cgonzalez@multiexportfoods.com
Ventisquero	Ulises Jara	ujara@ventisquero.cl

Hendrix genetics	Rodrigo Torrijo	rodrigo.torrijo@hendrix-genetics.com
	Marta Arévalo Jara	marta.arevalo@hendrix-genetics.com
	Alejandro Alert Buschmann	alejandro.alert@hendrix-genetics.com
Schmidt & CIA.	Ximena Catalán	xcatalan@schmidtseguros.cl
Centrovét Virbac	Marco Soto	marco.soto@centrovét.com
	Sandra Arcos	sandra.arcos@centrovét.com
FAV	Olga Araya	olga.araya@abott.com
Fiordo austral	Pamela Schmidt	pamela.schmidt@fiordoaustral.com
Biomar	Alin Casado	acasado@biomar.com
Acuagen Chile	Sebastián Pérez	sebastian.perez@aquagenchile.cl
Stofnfiskur Chile	Rodolfo Infante	rodolfo@stofnfiskur.is
Acuicola Nalcahue	Jaime Espinoza	j.espinoza@nalcahue.cl
Veterquímica	Cristian Castro	c.castro@veterquímica.cl
	Andrea Millán	a.millan@veterquímica.cl
	Samuel Valdebenito	svaldebenito@veterquímica.cl
STIM (EUROPHARMA)	Eduardo Hofmann	eduardo.hofmann@stimchile.cl
PHARMAQ AS Chile Ltda.	Gabriela Besoain	gabriela.besoain@zoetis.com
AquaSmolt	Nelson Pardo	npardo@aquasmolt.cl
	Juan Pablo Núñez N.	jpnunez@aquasmolt.cl
	Elizabeth Fuentes V	efuentes@aquasmolt.cl
Salmofood vitapro	Ian Lozano	ilozanoj@vitapro.cl
Biomar	Eduardo Hagedorn	EHAGEDORN@BIOMAR.COM
Skretting Puerto Montt	Juan Gutiérrez	juan.gutierrez@skretting.com
Australis Seafoods S.A.	---	info@australis-sa.com
Salmones Magallanes	---	salmonesmagallanes@salmonesmagallanes.cl
Marine Farm	---	cbunster@marinefarm.cl
Salmones Captren	---	contacto@salmonescaptren.cl
Salmon Chile INTESAL	---	requerimientos@intesar.cl
Acuasesorias	Marcelo Campos	mcl@acuasesorias.cl
AVS Chile S.A.	Claudia Venegas Morales	claudia.venegas@avs-chile.cl

Tabla 10. Actores identificados por sector de interés y contactados para aplicación de encuesta e invitación a Taller, sector público.

Servicio Público	Nombre	Correo electrónico
SAG	Gonzalo Pardo	gonzalo.pardo@sag.gob.cl
SUBPESCA	Cristian Acevedo	cristianac@subpesca.cl
	Flor Uribe	furibe@subpesca.cl
	Alejandro Barrientos	abarrientos@subpesca.cl
	Maureen Alcayaga	mag@acuasesorias.cl
	David Escobar	deriveaud@subpesca.cl
	Eduardo Anderson	eanderson@subpesca.cl
	Oscar Henríquez Arriagada	ohenriqueza@subpesca.cl
	Evelyn Alarcón	earcon@subpesca.cl
	Nicole Mermoud	nmermoud@subpesca.cl
	Aurora De Rays	aderays@subpesca.cl
	Rafael Hernández Vidal	rhernandez@subpesca.cl
	Sandra Molina Hernández	smolina@subpesca.cl
	Rodrigo Aguilera Silva	raguilera@subpesca.cl
	Catalina González Olavarria	cgonzalez@subpesca.cl
	Francisco Holmberg	fhholmberg@subpesca.cl
	Ramiro Contreras	rcontreras@subpesca.cl
	Paulina Barraza Barraza	pbarraza@subpesca.cl
	María Victoria Macaya	mmacaya@subpesca.cl
	Cecilia Pérez Hernández	cperez@subpesca.cl
	Juan Carlos Fritis Tapia	jfritis@subpesca.cl
Paulina Vega González	pvega@subpesca.cl	
Esteban Donoso Abarca	edonoso@sernapesca.cl	
Daniel Segura	dsegura@subpesca.cl	
IFOP	Gastón Vidal	gaston.vidal@ifop.cl
	Heraldo Contreras	heraldo.contreras@ifop.cl
	Sergio Contreras	scontreras@ifop.cl
	Juan Carlos Quintanilla	juancarlos.quintanilla@ifop.cl
	Leonardo Guzman	leonardo.guzman@ifop.cl
	Gemita Pizarro	gemita.pizarro@ifop.cl
Comité Técnico Científico	José Luis Blanco García	jose.blanco.garcia@gmail.com
INIA	Jaime Piñeira	jpineira@inia.cl

Tabla 11. Actores identificados por sector de interés y contactados para aplicación de encuesta e invitación a Taller, sector academia.

Institución	Nombre	Correo electrónico
Comité Científico Técnico	Laura González Poblete	l.laura.gonzalez@gmail.com
Universidad de los Lagos	Luis Filun Villablanca	lfilun@ulagos.cl
Universidad de Chile	Roberto Neira	rneira@uchile.cl
	Victor Martínez	vmartine@uchile.cl
	Cristian Araneda	craraned@uchile.cl
Universidad Andrés Bello	Pablo Valenzuela	pvalenzuela@cienciavida.org
Universidad Austral de Chile	Jorge Toro Yagui	jtoro@uach.cl
	Stefan Wolf	swoelf@uach.cl
	Jorge Nimptsch Maas	jorge.nimptsch@uach.cl
Universidad de Magallanes	Valentina Scabini	valeria.scabini@umag.cl
	Pablo Rodrigo Gallardo Ojeda	pablo.gallardo@umag.cl
Pontificia Universidad Católica de Chile	Sebastián Escobar	sebastian.escobar@uc.cl
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso	Silvia Gómez	silvia.gomez@pucv.cl
	María Isabel Toledo Donoso	isabel.toledo@pucv.cl
	José Gallardo	jose.gallardo@pucv.cl
Universidad de Antofagasta	Miguel Avendaño Díaz	miguel.avendano@uantof.cl
	Duxan Arancibia	duxan.arancibia@uamail.cl
	Marcela Verónica Cantillanez Silva	marcela.cantillanez@uantof.cl
Universidad de Concepción	Marcela Rodríguez	marcerodriguez@udec.cl
	Cristian Hernández	cehernand@gmail.com
	Pedro Victoriano	pvictori@gmail.com
	Ariel Valenzuela	avalenz@udec.cl
	Daniel Gómez	dgomezu@udec.cl
	Cristian Gallardo	risgallardo@oceanografia.udec.cl
	Sofía Valenzuela	sofvalen@udec.cl
	Alejandra Llanos	allanos@udec.cl
	Margarita Marchant San Martín	mmarchan@udec.cl
	Victor Hernández Santander	vhernand@udec.cl
	Fernando Cruzat Cruzat	seccsnat@udec.cl
	Carlos M. Baeza Perry	cbaeza@udec.cl
	Marcus Sobarzo	msobarz@udec.cl
Juan Carlos Ortiz Zapata	jortiz@udec.cl	
ChileBio	Miguel Ángel Sánchez	masanchez@chilebio.cl

El sector Académico está representado por las siguientes instituciones: Universidad de Concepción, Pontificia Universidad Católica de Chile, Universidad de los Lagos, Universidad Católica del Norte, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Universidad de Magallanes, Universidad de Chile, Universidad Andrés Bello, Universidad de Antofagasta.

El sector Productivo está representado por las siguientes empresas: BluMar, Cupquelan, Caleta Bay, Multiexportfoods, Hendrix Genetics, AquaSmolt, Salmofood vitapro, Biomar, Stofnfiskur Chile, Salmon Chile, Cermaq Chile, Yadran, Ventisquero, Centrovét Virbac, FAV, Fiordo austral, Acuagen Chile, Acuicola Nalcahue, Veterquímica, STIM (EUROPHARMA), PHARMAQ AS Chile Ltda., Skretting Puerto Montt, Blue genomics spa

El sector de servicio público está representado por las siguientes instituciones: IFOP (Instituto de Fomento Pesquero), SUBPESCA (Subsecretaría de Pesca y Acuicultura), SERNAPESCA (Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura), Servicio Agrícola y Ganadero.

DISEÑO DE ENCUESTA

Con el propósito de conocer las perspectivas e interés en los OGM para su uso en acuicultura, tanto en el sector público como privado, se confeccionó un instrumento que requirió de información explícita de parte de los encuestados, que nos generara un acercamiento a la problemática a través de la aplicación de una encuesta de percepción.

Para el diseño del instrumento se revisó literatura, así como encuestas de percepción a la población nacional e internacional sobre OGM aplicadas en otras investigaciones previamente (Schnettler Morales et al., 2007; Blendon et al., 2016; McCaughey et al., 2016). De esta forma, se estableció el tipo de consulta a realizar, así como el alcance y los segmentos de personas que podrían responder el instrumento, con la finalidad de establecer las perspectivas e interés público y privado en materias de investigación, cultivo y comercialización de OGM en la acuicultura chilena.

La elaboración del instrumento consideró preguntas de tipo genérico (e.g. ¿Sabe usted que son los organismos genéticamente modificados?) y otras específicas elaboradas por los integrantes del equipo. De un total de 40 preguntas formuladas, se seleccionaron 36 preguntas para el instrumento. Las preguntas del instrumento se estructuraron en dos grandes grupos: i) preguntas dicotómicas (i.e. sí o no), y preguntas de opción múltiple. Esta última siguiendo la modalidad de escala de Likert, en que el encuestado deba indicar su nivel de acuerdo o desacuerdo sobre una afirmación que pudieran ser contestadas con facilidad, posibilitando la medición de datos en forma sencilla e interpretadas estadísticamente.

El conjunto de preguntas se ordenó de manera de iniciar con preguntas generales, introduciendo al encuestado en el contexto temático e ir profundizando en su percepción ante diferentes escenarios relacionados con los OGMs.

El instrumento fue revisado por los integrantes del equipo de trabajo, profesionales de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, así como pasantes de la carrera de Antropología de la Universidad de Concepción.

Para identificar dificultades del contenido, identificar sesgos, mejorar redacción de las preguntas, y el mejor orden de estas, se realizó una encuesta piloto sobre 42 participantes. Esta encuesta piloto nos permitió determinar el tiempo involucrado en contestar el instrumento, así como mejorar elementos relacionados el orden de las secciones de preguntas, mejorar la redacción y eliminar y/o modificar contenidos ambiguos. Además, al considerar la opción intermedia, los resultados fueron sesgados, por lo que se optó por incluir en la encuesta final la opción No Sabe y no la opción Ni de acuerdo/Ni en desacuerdo. Este cambio permitiría acercarnos al nivel de conocimiento sobre el tema.

El instrumento corregido fue utilizado para confeccionar una versión en línea, a través de la aplicación SurveyMonkey, que permitió alcanzar a potenciales participantes como: estudiantes de ciencias del mar, académicos, productores, comercializadores, funcionarios públicos, empresas biotecnológicas, Organismos No Gubernamentales, profesionales de diferentes áreas y público en general.

La encuesta fue enviada a los correos electrónicos de los actores relevantes identificados (111 en total) en todos los ámbitos indicados previamente, paralelamente se difundió en redes sociales del Laboratorio de Genética y Acuicultura como Facebook, Twitter, en la página web de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción, y en revistas especializadas del área de acuicultura. Se adjuntan algunos enlaces electrónicos para revisión Se adjuntan algunos enlaces electrónicos para revisión:

- a) <https://www.agua.cl/2019/12/23/proyecto-fipa-sobre-ogm-realiza-encuesta-sobre-usos-y-cultivo-de-estos-organismos-en-chile/>
- b) <https://www.agua.cl/2020/01/06/realizan-encuesta-sobre-organismos-geneticamente-modificados/>

- c) <https://www.salmonexpert.cl/article/en-chile-crece-el-interes-por-la-acuicultura-geneticamente-modificada/>
- d) <https://www.salmonexpert.cl/article/proyecto-define-lineamientos-para-comenzar-el-estudio-de-ogms-en-chile/>
- e) <http://www.subpesca.cl/fipa/613/w3-article-106411.html>
- f) <https://www.naturalesudec.cl/organismos-geneticamente-modificados-en-acuicultura/>

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LA ENCUESTA

En el diseño de la encuesta se consideró un formato tipo Likert, ya que esta escala es una herramienta de medición que, a diferencia de preguntas dicotómicas con respuesta sí/no, permite medir el nivel de acuerdo del encuestado con una afirmación que se le proponga. Las categorías de respuesta en un mayor número de opciones permiten matizar respuestas, en nuestro caso se omitió la opción intermedia (en acuerdo/en desacuerdo) dado el sesgo que esta produjo en los resultados obtenidos, optándose por la opción No sabe (Matas, 2018)

En las preguntas 2 a la 7 se utilizó un formato dicotómico (SI/NO) además de solicitar ejemplos en algunas de ellas, los que también fueron utilizados en el análisis.

Para el análisis de los datos se realizó una tabulación de las respuestas a la forma de frecuencias absolutas y relativas, esta última indicada como porcentaje. Para la visualización de los datos se utilizó una planilla Excel para elaborar una gráfica de barra de columna apilada que entregara todas las alternativas en conjunto.

Las gráficas se presentan agrupadas por temática para considerar el nivel de acuerdo o desacuerdo ante una afirmación, cada ítem fue analizado en conjunto a nivel de acuerdo (Muy de acuerdo-De acuerdo) o desacuerdo (En desacuerdo-Muy en desacuerdo), la opción No sabe fue considerada individualmente.

Para el análisis de la frecuencia de mención de palabras, en aquellas preguntas que se solicitó ejemplos, se utilizó la aplicación Wordle.net, la cual permite obtener una representación visual de las palabras donde el tamaño de la misma es mayor en la medida que es mencionada con más frecuencia en las respuestas de los encuestados.

INSTRUMENTO APLICADO

ENCUESTA DE PERCEPCION RESPECTO DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS, OCTUBRE 2019

Estimada(o):

Junto con saludar, agradeceríamos su colaboración en el desarrollo del proyecto FIPA N°2018-52 “Análisis del Estado de la Situación Mundial y Proyecciones de la Producción y Usos de Organismos Genéticamente Modificados con Énfasis en la Acuicultura” que ejecutan la Universidad de Concepción, y la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura

La investigación tiene por objetivo realizar un levantamiento de información respecto al estado del arte de Organismos Genéticamente Modificados (OGM) a nivel mundial con énfasis en la acuicultura de especies hidrobiológicas, entendiendo por especies hidrobiológicas a aquellas que tengan en el agua su medio normal o más frecuente de vida. Como es de su conocimiento, el desarrollo y crecimiento de la acuicultura ha generado el interés de aplicar alternativas biotecnológicas que mejoren los procesos de producción. Sin embargo, existe preocupación generalizada de los impactos que tiene el introducir OGMs en sistemas naturales.

La información que se recopile servirá de base para el análisis de las perspectivas e intereses del sector público y privado para importación, mantención, investigación, cultivo y/o comercialización de OGM en la acuicultura chilena, como en la investigación científica que considera especies hidrobiológicas genéticamente modificadas. Por tal motivo, agradeceríamos responder la encuesta antes del 15 de diciembre. Usted podrá encontrar la encuesta asociada a esta investigación en el siguiente enlace:

La información recopilada mediante esta encuesta es totalmente confidencial y sus datos de identidad (correo electrónico, dirección IP, etc.) no quedarán registrados.

Mayores informaciones sobre los objetivos y etapas del proyecto FIPA N°2018-52, pueden ser solicitada al correo: acuigen@udec.cl

Atentamente,

Equipo de investigación proyecto FIPA N°2018-52

1. ¿En qué área de actividad se identifica?
 Producción
 Comercio
 Academia
 Estudiante Universitario Enseñanza Media
 Servicio público
 Otro _____

2. ¿Sabe usted que son los organismos genéticamente modificados?
 Si
 No

3. ¿Sabe usted como identificar un organismo genéticamente modificado?
 Si
 No
 Algunos

¿podría dar un ejemplo? _____

4. ¿Sabe usted que son los alimentos genéticamente modificados?
 Si
 No

5. ¿Sabe usted como identificar los alimentos genéticamente modificados?
 Si
 No
 Algunos

Si su respuesta es sí, ¿podría dar un ejemplo? _____

6. ¿Sabe Ud. que la insulina para los diabéticos se obtenía de animales, pero hoy se produce a partir de organismos genéticamente modificados?
 Si
 No

7. ¿Sabe Ud. que en Chile se consumen alimentos genéticamente modificados?
 Si
 No
 Algunos

¿Podría mencionar alguno(s)? _____

Para las siguientes afirmaciones, señale si está de acuerdo o no, según la escala indicada:

8. Consumir alimentos genéticamente modificados es un riesgo para la salud humana
- () Muy de acuerdo
 - () De acuerdo
 - () En desacuerdo
 - () Muy en desacuerdo
 - () No sabe
9. Producir alimentos genéticamente modificados es un riesgo para el medio ambiente
- () Muy de acuerdo
 - () De acuerdo
 - () En desacuerdo
 - () Muy en desacuerdo
 - () No sabe
10. Considera que el consumo directo de organismos hidrobiológicos genéticamente modificados o de sus productos, afectarían positivamente la salud humana
- () Muy de acuerdo
 - () De acuerdo
 - () En desacuerdo
 - () Muy en desacuerdo
 - () No sabe
11. ¿Considera que el consumo directo de organismos hidrobiológicos genéticamente modificados o de sus productos, afectarían negativamente la salud humana?
- () Muy de acuerdo
 - () De acuerdo
 - () En desacuerdo
 - () No sabe
12. El cultivo y producción de OGM no debe realizarse en Chile porque no se debe alterar la condición genética natural de los organismos involucrados.
- () Muy de acuerdo
 - () De acuerdo
 - () En desacuerdo
 - () Muy en desacuerdo
 - () No sabe
13. El consumo de OGM ya sea en forma directa o como parte de otro alimento causaría un incremento en las intoxicaciones y/o las alergias alimentarias
- () Muy de acuerdo
 - () De acuerdo
 - () En desacuerdo
 - () Muy en desacuerdo
 - () No sabe

14. El consumo de OGM o sus productos es riesgoso porque sus genes pueden ser transferidos al humano
- Muy de acuerdo
 - De acuerdo
 - En desacuerdo
 - Muy en desacuerdo
 - No sabe
15. El riesgo ecológico de los OGM se debe a que presentan mayores ventajas competitivas sobre aquellos organismos no modificados.
- Muy de acuerdo
 - De acuerdo
 - En desacuerdo
 - Muy en desacuerdo
 - No sabe
16. Los OGM pueden incorporar sus genes en organismos genéticamente no modificados, afectando su sobrevivencia, reproducción o interacción con otros organismos de su ambiente.
- Muy de acuerdo
 - De acuerdo
 - En desacuerdo
 - Muy en desacuerdo
 - No sabe
17. ¿Cree Ud. que los OGM son peligrosos para la estabilidad de los ecosistemas marinos y/o dulceacuícolas?
- Muy de acuerdo
 - De acuerdo
 - En desacuerdo
 - Muy en desacuerdo
 - No sabe
18. ¿Considera factible que Chile permita la investigación en organismos hidrobiológicos genéticamente modificados (OGM) para distintos fines?
- Muy de acuerdo
 - De acuerdo
 - En desacuerdo
 - Muy en desacuerdo
 - No sabe

19. ¿Considera factible que Chile permita la investigación en OGM para producir organismos para consumo humano?
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo
 -) Muy en desacuerdo
 -) No sabe
20. ¿Considera factible que Chile pueda producir alimentos de organismos hidrobiológicos genéticamente modificados, siempre que cuente con investigación científica de respaldo?
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo
 -) Muy en desacuerdo
 -) No sabe
21. ¿Considera factible que Chile permita el cultivo comercial de organismos hidrobiológicos genéticamente modificados?
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo
 -) Muy en desacuerdo
 -) No sabe
22. ¿Considera factible que Chile permita la comercialización de organismos hidrobiológicos genéticamente modificados?
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo
 -) Muy en desacuerdo
 -) No sabe
23. ¿Si usted fuera productor de alimentos, produciría organismos hidrobiológicos genéticamente modificados?
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo
 -) Muy en desacuerdo
 -) No sabe
24. ¿Ud. Comercializaría organismos hidrobiológicos genéticamente modificados (OGM)?
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo

- Muy en desacuerdo
 No sabe
25. En el caso que se permita el cultivo de los OGM, ¿sus cultivos deben ser en sistemas cerrados en tierra?
 Muy de acuerdo
 De acuerdo
 En desacuerdo
 Muy en desacuerdo
 No sabe
26. En el caso que se permita el cultivo de los OGM, ¿sus cultivos pueden ser en sistemas abiertos en el mar?
 Muy de acuerdo
 De acuerdo
 En desacuerdo
 Muy en desacuerdo
 No sabe
27. En el caso que se permita el cultivo de OGM, ¿las solicitudes respectivas deberían ingresar al Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental?
 Muy de acuerdo
 De acuerdo
 En desacuerdo
 Muy en desacuerdo
 No sabe
28. En caso de que en Chile se autorizara el cultivo de OGM. La reglamentación en Chile debería indicar que, para su comercialización, el etiquetado debe señalar que se trata de organismos hidrobiológicos genéticamente modificados o productos de los mismos.
 Muy de acuerdo
 De acuerdo
 En desacuerdo
 Muy en desacuerdo
 No sabe
29. La reglamentación en Chile para el cultivo de organismos hidrobiológicos genéticamente modificados debería distinguir entre OGMs generados por transgenia de aquellos generados a partir de edición genómica
 Muy de acuerdo
 De acuerdo
 En desacuerdo
 Muy en desacuerdo
 No sabe

30. El mejoramiento genético asistido por marcadores genéticos es un procedimiento para obtener OGMs.
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo
 -) Muy en desacuerdo
 -) No sabe
31. El mejoramiento genético asistido por fenotipos es un procedimiento para obtener OGMs.
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo
 -) Muy en desacuerdo
 -) No sabe
32. La reglamentación en Chile para el cultivo de organismos hidrobiológicos distingue entre mejoramiento genético asistido por marcadores genéticos, y el mejoramiento genético asistido por fenotipos?
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo
 -) Muy en desacuerdo
 -) No sabe
33. El uso de OGM hidrobiológicos aumenta el riesgo que una o unas pocas empresas puedan establecer una condición monopólica sobre la producción de determinadas especies o productos, controlando la producción y el mercado.
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo
 -) Muy en desacuerdo
 -) No sabe
34. En el caso que usted fuera un acuicultor, alimentaría sus cultivos con alimentos (e.g pellets, microalgas, aceites) que contienen OGMs (OGM vivo, parte de un OGM, o un subproducto)
-) Muy de acuerdo
 -) De acuerdo
 -) En desacuerdo
 -) Muy en desacuerdo
 -) No sabe
35. En el caso que usted fuera un acuicultor, trataría sus cultivos con productos farmacéuticos veterinarios que contienen OGMs (OGMs vivos, parte de un OGM, o un subproducto)

- Muy de acuerdo
- De acuerdo
- En desacuerdo
- Muy en desacuerdo
- No sabe

36. Sugerencias o comentarios, o si considera que se omitió algún tema relevante, indíquelo

Si está interesado en conocer algo más del proyecto, de los resultados o desea participar de algún taller al respecto, puede dejar su correo electrónico y lo(a) contactaremos

e-mail: _____

RESULTADOS

Del universo de 111 actores relevantes considerados para conocer su percepción sobre los OGMH y a los cuales se les envió la encuesta por correo, además, de los interesados en el tema que accedieron al instrumento por redes sociales, se obtuvo un total de 112 encuestas respondidas, los participantes se distribuyeron en los diferentes sectores relacionados con OGMs. El sector que tuvo mayor participación fue la academia con 51 personas, seguido por el servicio público (19), estudiante universitario (15) sector productivo (8), comercio (5). Las frecuencias absolutas y relativas entregadas en porcentajes se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Número de participantes en encuesta por sector de actividad. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

SECTOR	NÚMERO	PORCENTAJE
Producción	8	7
Comercio	5	4
Academia	51	46
Estudiante Universitario	15	13
Estudiante Enseñanza Media	1	1
Servicio Público	19	17
Otro (profesional, jubilado)	13	12

De las 38 preguntas que consideró la encuesta, 30 de ellas fueron respondidas por 112 personas lo que representa un 81% del total de preguntas, 6 preguntas fueron respondidas por 111 personas, y 2 preguntas fueron respondidas por 110 y 105 personas respectivamente.

Las preguntas dicotómicas (SI/NO) relacionadas con el conocimiento que tiene el encuestado sobre OGM mostró a un 92% señalando la opción Si (i.e. saben o piensan saber que es un OGM) y un 8% opción No. En relación con la consulta ¿Sabe que son los alimentos genéticamente modificados? el 96% respondió la opción Si (Figura 53).

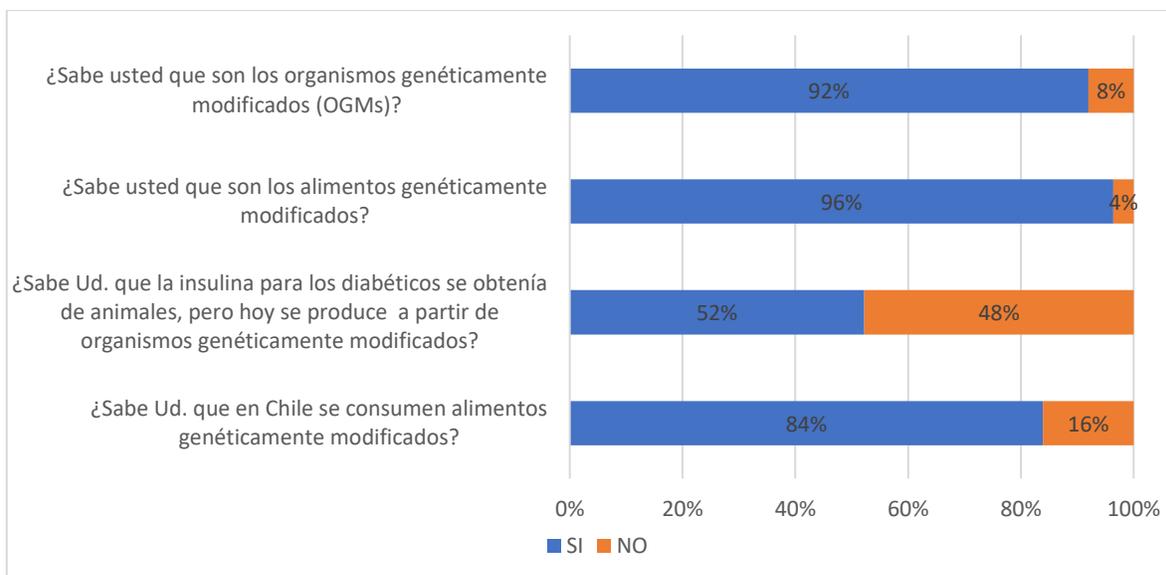


Figura 53. Preguntas de opción SI o NO sobre conocimiento general sobre OGM. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

En la pregunta ¿Sabe que son los organismos genéticamente modificados?, se les solicitó indicar ejemplos de ellos. Se utilizó una representación visual de las palabras mencionadas por los encuestados, donde el tamaño de la palabra es mayor de acuerdo con la frecuencia que se menciona. Para esta pregunta, 8 ejemplos de OGM fueron mencionados en la frecuencia que se muestra en la Figura 54.

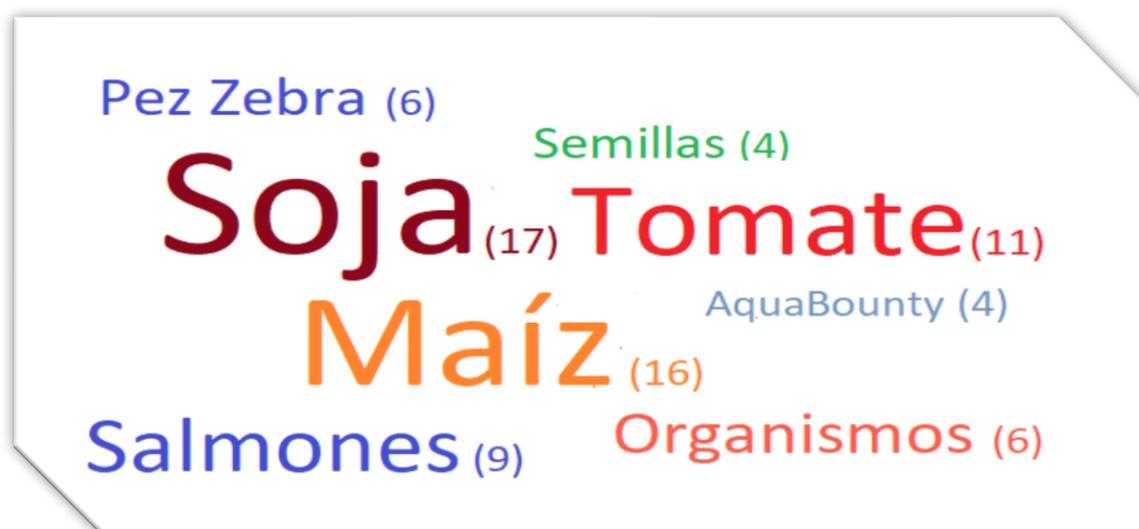


Figura 54. Ejemplos de organismos genéticamente modificados presentes en Chile, según los encuestados. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

En la pregunta ¿Sabe Ud. que en Chile se consumen alimentos genéticamente modificados? el 84% de las respuestas indicó que sí se consumían. Se solicitó indicar ejemplos de ellos, en este sentido los encuestados señalaron los siguientes alimentos: Soja, Maíz, Tomate, Leche, Aceite, Verduras, Pollo, Trigo, algunas frutas, Canola. Utilizando la representación visual de las palabras de acuerdo a la frecuencia (número entre paréntesis) con que fueron mencionados se realizó la Figura 55.

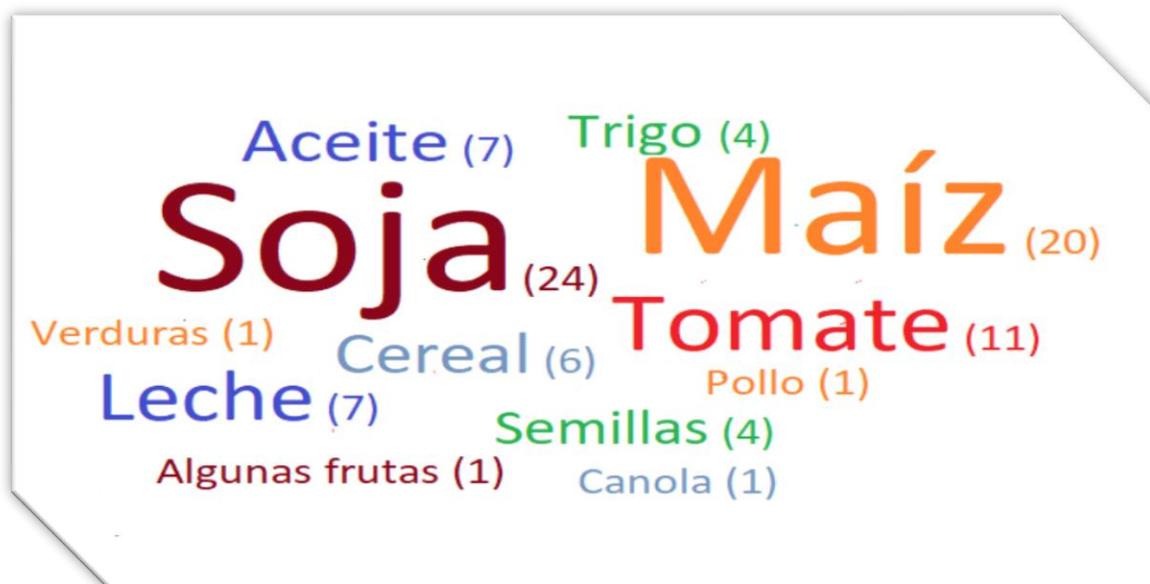


Figura 55. Alimentos modificados genéticamente que se consumen en Chile según encuestados. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

Respecto a la consulta como identificar OGM, la Figura 56 muestra que un 47% de los encuestados respondió No saber cómo identificarlo, un 29% respondió Si saberlo, y un 24% señala saber cómo identificar algunos de ellos.

En la identificación de alimentos genéticamente modificados, un 48% de los encuestados contestó No saber identificarlos, la opción SI logró un 27% y Algunos un 25%

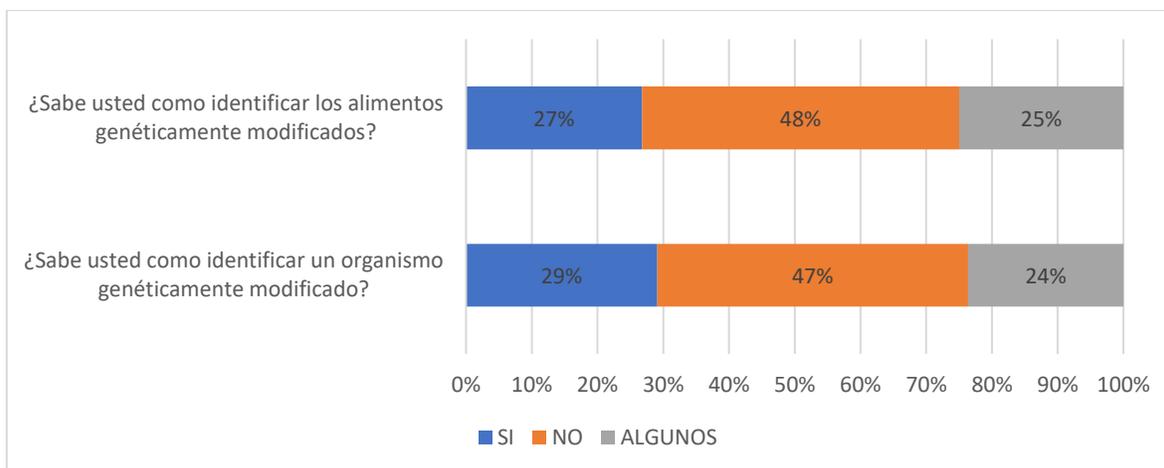


Figura 56. Preguntas asociadas a la identificación de un OGM o alimentos genéticamente modificados. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

En los ejemplos mencionados para identificar OGM se encuentran los siguientes: Etiquetado (6 veces), técnica PCR (3), código PLU frutas y verduras iniciado con número 8 (1), método ELISA (2), técnica western blot (1), análisis moleculares (2), análisis de ADN (1), certificación producto No GMO (1), características fenotípicas (1).

En las preguntas siguientes, se utilizó las opciones de una escala Likert de opción múltiple para niveles de acuerdo o desacuerdo, en las gráficas se muestran las frecuencias relativas en términos de porcentaje y para fines de análisis se agruparon las opciones Muy de Acuerdo-De acuerdo, Desacuerdo-Muy en desacuerdo.

En el grupo de preguntas referidas a los riesgos en el consumo de OGM los encuestados señalaron lo siguiente: el 50% de los encuestados está desacuerdo o muy en desacuerdo la afirmación, un 29% está de acuerdo o muy de acuerdo y un 21% no sabe. Además, un 36% señala efectos positivos, un 29% responde estar en desacuerdo o muy en desacuerdo con que los OGM hidrobiológicos tengan un efecto positivo en la salud humana y un 36% señala no saber. Respecto de los efectos negativos, un 24% responde estar de acuerdo o muy de acuerdo con la sentencia, mientras el 43% señala estar en desacuerdo, un 34% indica no saber.

Respecto a la consulta que el consumo de OGM causaría un incremento en intoxicaciones y/o alergias alimentarias, un 26% responde estar de acuerdo o muy de acuerdo, el 42% señaló estar en desacuerdo o muy en desacuerdo con esta afirmación y un 34% declara No saber (Figura 57).

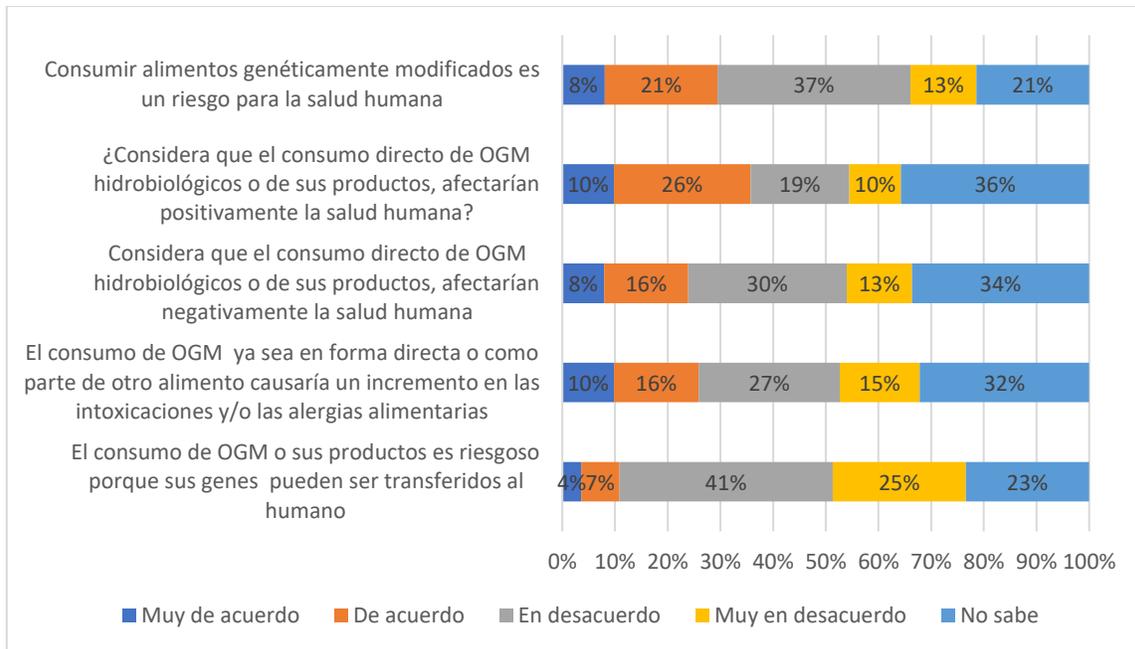


Figura 57. Preguntas asociadas al efecto del consumo de OGMH para la salud humana. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

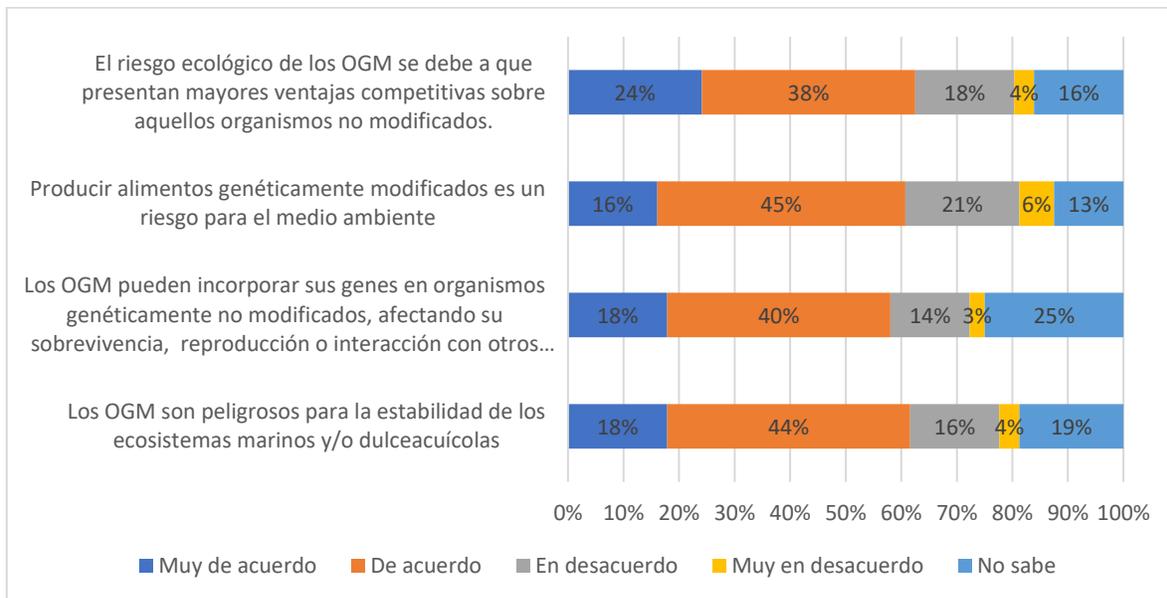


Figura 58. Respuestas asociadas a las consultas sobre riesgos ambientales relacionados con los OGMH. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

En materia de riesgos para el medio ambiente (Figura 58) los encuestados muestran una percepción de riesgo mayor para el medio ambiente que el observado para los efectos sobre la salud humana. Un 61% está de acuerdo o muy de acuerdo en que los OGM son peligrosos para la estabilidad de los ecosistemas marinos y/o dulceacuícolas.

En cuanto a la producción de alimentos genéticamente modificados, el 60% está de acuerdo o muy de acuerdo que es un riesgo para el medio ambiente.

Respecto del riesgo ecológico, el 62% está muy de acuerdo o de acuerdo en que los OGM presentan ventajas competitivas sobre los organismos no modificados.

Con respecto a la percepción que tienen los encuestados sobre riesgos ambientales, la percepción que los OGM si representan riesgos para el medio ambiente podría estar sustentada en información existente respecto a los OGM específicamente en la agricultura (e.g cultivo de soya, canola, maíz entre otros). En los que el cultivo de plantas modificadas genéticamente podría tener impactos no deseados en la salud del ecosistema, como el flujo de genes no naturales (FG), la disminución de la diversidad genética, los efectos en especies no objetivo, la mala hierba, la eficiencia reducida de pesticidas y herbicidas, la toxicidad de herbicidas e insecticidas y la modificación del suelo y química y calidad del agua (Mertens, 2008). Además de que el cultivo de plantas modificadas genéticamente podría tener repercusiones perjudiciales en la complejidad del ecosistema al disminuir la biodiversidad (Lovei et al., 2010).

Por ejemplo, las posibles rutas de flujo de genes de plantas GM a plantas no GM son mediadas por polen, semillas y/o propágulos vegetativos. Es así que se ha informado de flujo genio mediado por polen en varios niveles en la mayoría de los cultivos transgénicos, como maíz, colza, arroz, cebada, algodón y frijoles (Ford et al., 2006, Han et al., 2015, Yan et al., 2015). El potencial de flujo génico es alto en áreas donde existen contrapartes naturales o especies sexualmente compatibles, y se han reportado híbridos GM × silvestres en casi todos los cultivos transgénicos, incluidos trigo, arroz, soja, maíz, colza, bentgrass rastrero, remolacha azucarera, girasol, canola y Arabidopsis (Sanchez et al., 2016).

Es por ello por lo que el flujo génico y la formación de híbridos es claramente una amenaza ambiental y que esta fuerza puede conducir a la presencia no deseada de transgenes en productos que no están destinados a la ingeniería genética (Tsatsakis et al., 2017).

En otros casos solo hay implicaciones especuladas, como la transferencia de genes de resistencia a antibióticos y la transferencia de genes de la alimentación GM al tracto gastrointestinal de animales y humanos (Keese, 2008).

Los posibles riesgos para la salud y la diversidad del ecosistema podrían ser el desarrollo de organismos/especies resistentes, la producción unificada de los rasgos de elección, el daño a los agentes de biocontrol naturales, la alteración de las comunidades microbianas del suelo, la reducción de las poblaciones de polinizadores, la reducción de las prácticas / procesos naturales que ayudan desarrollo varietal y reordenamiento de cadenas alimentarias o redes alimentarias a escala espacio-temporal (Suzie et al., 2008).

Sin embargo, un informe de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos (NAS) del 2016 reveló que el cultivo de cultivos transgénicos no ha tenido un impacto negativo en el medio ambiente, los ecosistemas, la biodiversidad o la salud. Al cultivar cultivos resistentes a herbicidas e insectos, la cantidad de pesticidas y herbicidas ha disminuido, mientras que el rendimiento ha aumentado.

Aunque, por otro lado, el informe destacó las preocupaciones con respecto a los cambios en la presencia y las concentraciones de metabolitos secundarios hecho a través de la ingeniería genética, así como la reproducción convencional.

Es importante destacar que antes del cultivo comercial y el consumo de los cultivos de organismos genéticamente modificados por parte del usuario final, los alimentos y piensos deben pasar por un riguroso procedimiento regulatorio y legislativo para recibir autorización para la seguridad pública y ambiental.

En el caso específico de los organismos genéticamente modificados en acuicultura el único ejemplo existente es el del Salmon AquAdvantage, que para poder cumplir con los requerimientos ambientales solamente producen hembras, hemicigotas para el transgén (solamente está presente en uno de los cromosomas del salmón, en una determinada localización, no estando en el otro cromosoma homólogo), insertado en forma de una sola copia en el genoma del salmón. Además, se producen como organismos triploides, con tres copias de cada cromosoma, en lugar de las dos habituales, y por lo tanto el Salmon AquAdvantage son todas hembras estériles. Destacando que el crecimiento de los huevos del Salmon AquAdvantage se

efectúa en Panamá, en tanques confinados en el interior del país, alejados de la costa y de cualquier río o lago.

Actualmente a nivel mundial, el debate sobre las implicaciones ambientales de los alimentos y piensos modificados genéticamente aún está en curso.

En las preguntas referidas a la investigación (Figura 59) las respuestas mostraron un alto nivel de acuerdo para que en Chile se realice investigación en OGMH para distintos fines. Así, un 77% respondió estar de acuerdo o muy de acuerdo, 15% señaló estar en desacuerdo o muy en desacuerdo y un 7% respondió No sabe. De la misma forma, un 80% está de acuerdo y muy de acuerdo con la factibilidad de que Chile produzca alimentos de OGM, siempre y cuando cuente con investigación científica que lo respalde. En la misma línea, un 64% señaló estar de acuerdo y muy de acuerdo con que en Chile se permita la investigación en OGMH para producir organismos para consumo humano.

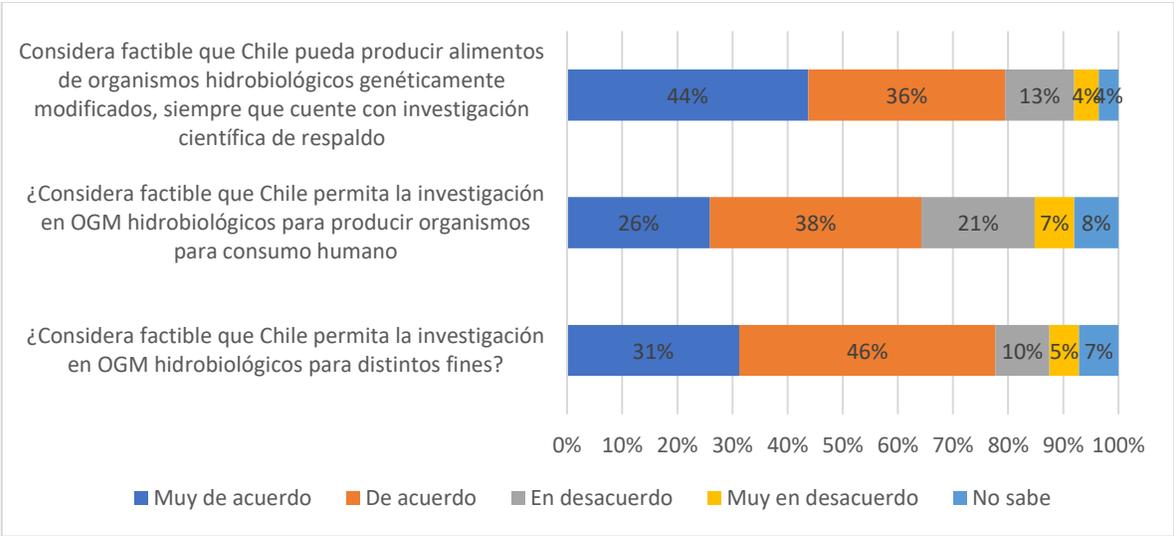


Figura 59. Preguntas asociadas con la investigación sobre OGMH en Chile. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

Con relación a la factibilidad de realizar cultivo comercial de organismos hidrobiológicos genéticamente modificados en Chile, la Figura 60 muestra que un 56% está de acuerdo o muy

de acuerdo con considerar factible que Chile permita el cultivo comercial de OGMH, un 31% está en desacuerdo y un 14% responde No sabe. Por otra parte, el 85% de los encuestados consideró que, si se permite el cultivo, este debe realizarse en sistemas cerrados, un 5% está en desacuerdo o muy en desacuerdo con la afirmación y un 11% responde No sabe.

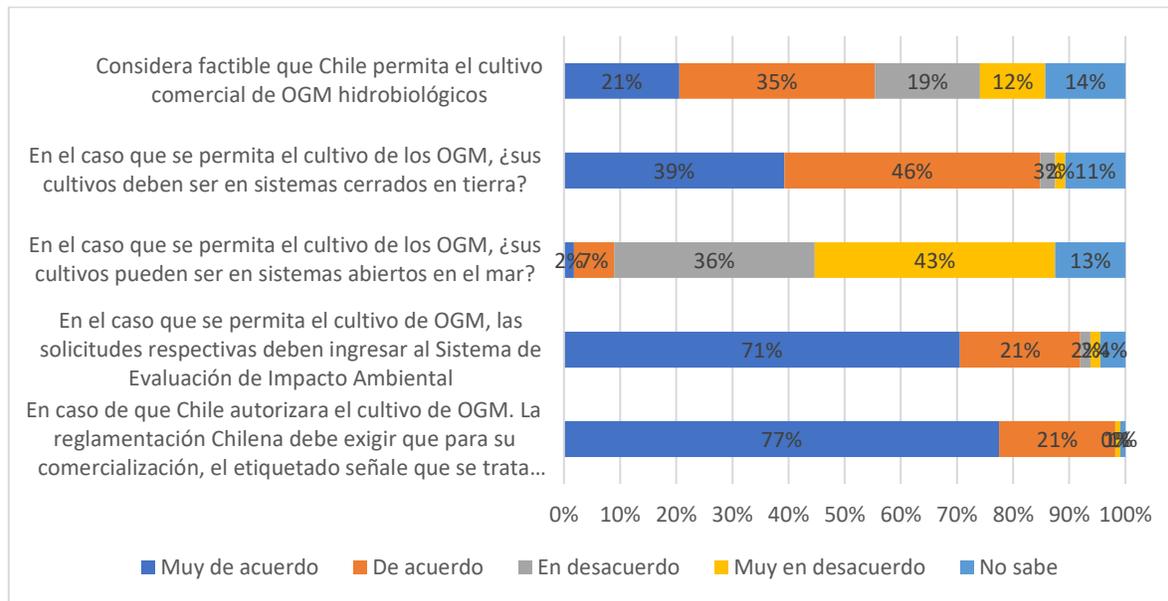


Figura 60. Preguntas relacionadas con factibilidad de cultivo comercial y etiquetado de OGMH en Chile. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

La Figura 60, muestra los resultados obtenidos en las preguntas referidas a la factibilidad de cultivo comercial en Chile de OGMH. En este sentido, respecto al cultivo en sistemas cerrados en tierra, las respuestas mostraron un nivel medio de percepción positiva (55%), contrariamente los cultivos en sistemas abiertos en el mar donde el nivel de percepción fue negativo (78%). El 92% está de acuerdo o muy de acuerdo que las solicitudes de cultivos de OGM pasen por el servicio de evaluación de impacto ambiental. Así mismo hay una percepción positiva que la reglamentación chilena debe exigir un etiquetado indicando que es un OGM.

Respecto al etiquetado, en países como España, la regulación sobre comercialización de productos alimenticios derivado de OGM es un debate social, lo cual ha promovido una cooperación entre diferentes organismos administrativos (Toj & Luj 2000). De esta forma, se

han extendido las preocupaciones públicas derivadas de la comercialización de productos modificados genéticamente, así como el cultivo comercial de OGM. Para prevenir el debate social, el Centro Nacional de Biotecnología (CNB) de España ha propuesto influir en el diseño de transgénicos exigiendo la eliminación de genes marcadores resistentes a antibióticos (Toj & Luj 2000).

Las preguntas cruciales son cómo abordar mejor la incertidumbre científica en la regulación de los OGMH, y en qué medida el público acepta esta incertidumbre como el precio necesario del desarrollo tecnológico en la acuicultura (Aerni, 2004). En este contexto, no es la percepción o elección del consumidor individual frente a un pescado genéticamente modificado etiquetado en el supermercado lo que más cuenta para el negocio de alimentos, venta minorista y gastronomía (los posibles compradores mayoristas de dicho pescado), sino la vulnerabilidad de su reputación cuando se trata de campañas de consumo organizadas contra productos OGM encontrados etiquetados o sin etiquetar en sus estantes (Aerni, 2004). La percepción pública a menudo está relacionada con juicios afectivos en lugar de cognitivos (Finucane et al., 2000), y por lo tanto puede verse significativamente influenciada eventos de protesta si estos son amplia y repetidamente cubiertos por los medios de comunicación en un marco de bien (ciudadanos preocupados) y maldad (compañías irresponsables).

El etiquetado es un tema importante desde las empresas hacia el consumidor (Phillip & Isaac 1998). Para la empresa es claramente una amenaza para el desarrollo continuo de investigación, procesos biotecnológicos y comercialización, imponiendo costos excesivos a los productores de OGM (Phillip & Isaac 1998). Sin embargo, en ausencia de una acción de la industria para etiquetar, los consumidores pueden presionar a los gobiernos para que impongan un etiquetado obligatorio para garantizar que las empresas sean responsables de las incertidumbres específicas del producto (Phillip & Isaac 1998). La solución es un etiquetado voluntario de los productos libres de OGM, o la presencia de atributos específicos de OGM en los productos. Este resultado sería tanto comercial como socialmente óptimo (Phillip & Isaac 1998).

Se debe tener en cuenta el derecho de los consumidores a estar informados. La información es esencial para que los consumidores puedan elegir entre un OGMH y su contraparte no modificada genéticamente, y el etiquetado también es una fuente de seguridad para la salud y la economía de las industrias de alimentos (Le Curieux-Belfond et al. 2009). Esto solo es posible si hay información disponible cuando se venden productos. Para los productos agrícolas en

Europa, el Reglamento CE / 1831/2003 sobre la trazabilidad y el etiquetado de OGM, obliga a las empresas a mencionar cualquier ingrediente OGM (Le Curieux-Belfond et al. 2009).

Existe un debate sustancial sobre si las etiquetas obligatorias podrían aumentar o disminuir la aversión del consumidor hacia la ingeniería genética. En la investigación de Kolodinsky & Lusk (2018) se tiene como objetivo ayudar a resolver este problema utilizando un conjunto de datos que contiene más de 7800 observaciones que miden los niveles de oposición en un grupo de control nacional en comparación con los niveles en Vermont, el único estado de EE. UU que ha implementado el etiquetado obligatorio de alimentos transgénicos. Las estimaciones de diferencia en oposición a los alimentos transgénicos antes y después del etiquetado obligatorio muestran que la política de etiquetado condujo a una reducción del 19% en la oposición a los alimentos transgénicos.

La introducción de ingredientes GM en productos alimenticios también ha sido centro de debates controvertidos y polarizadores en muchos países. Debido a que existe una gran brecha entre el juicio científico y la opinión pública sobre los alimentos modificados genéticamente, en consecuencia, los gobiernos se enfrentan al dilema de cómo regular la comercialización de productos alimenticios modificados genéticamente. Una opción para regular los alimentos modificados genéticamente es permitirlos, pero garantizar la segregación de sus homólogos convencionales, e introducir un esquema de etiquetado para permitir a los consumidores elegir entre productos alimenticios modificados genéticamente y no modificados genéticamente (Dannenberg et al. 2011). Sin embargo, la elección del esquema de etiquetado, obligatorio o voluntario, no es uniforme en todos los países. Durante la última década, más de 40 países en todo el mundo han requerido que los productos OGM sean etiquetados (Gruere & Rao, 2007). Algunos países, como Estados Unidos y Canadá, han optado por un esquema de etiquetado voluntario, mientras que otros países como los Estados miembros de la Unión Europea (UE), Japón y Australia han optado por un esquema de etiquetado obligatorio, argumentando que los consumidores tienen derecho a saber (Gruere et al. 2008).

El debate sobre el etiquetado de los productos alimenticios modificados genéticamente o que contengan ingredientes modificados genéticamente abarca cuestiones complejas, y los argumentos que sustentan el imperativo de etiquetar los alimentos modificados genéticamente deben evaluarse dentro de un marco en el que se consideren la ética, la autonomía del

consumidor, los costos, la estigmatización, la viabilidad y la seguridad alimentaria (Oh & Ezezika, 2014).

En Chile la Ley 20.606, y su modificación de noviembre del 2015, Ley 20.869 sobre “Composición nutricional de los alimentos y su publicidad” no incluyen el etiquetado de alimentos modificados genéticamente o que contengan ingredientes modificados genéticamente.

Respecto al cultivo de OGMH en sistemas cerrados o abiertos, la percepción a favor de cultivos en sistemas cerrados y en contra de sistemas abiertos encontrados, tiene sentido por las mayores incertidumbres en los riesgos asociados a estos últimos. Los sistemas de cultivo en tierra, confinados dentro de estructuras físicas aisladas de vías fluviales naturales mediante aparatos de filtración y otras formas de tratamiento de agua, brindan una garantía más sólida de confinamiento efectivo (Le Curieux-Belfond et al. 2009). Sin embargo, aun así, los riesgos no están totalmente ausentes, en particular cuando hay una planta de incubación en el sitio, porque la cantidad y el pequeño tamaño de los huevos y los alevines hacen que sea muy difícil asegurar el confinamiento (Le Curieux-Belfond et al. 2009). La disciplina en el manejo y el transporte es, por supuesto, capaz de mejorar la bioseguridad, pero no superará el error humano, en particular si la aplicación de protocolos y condiciones de trabajo no están estrictamente reguladas y supervisadas (Le Curieux-Belfond et al. 2009).

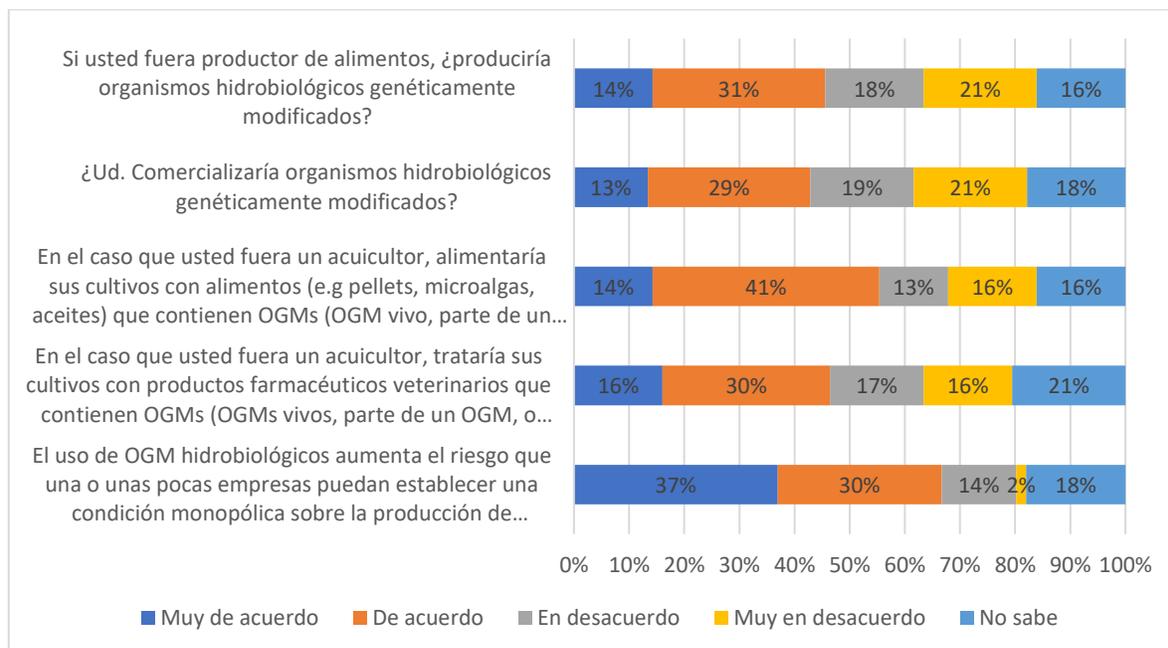


Figura 61. Grupo de preguntas asociadas a factibilidad productiva de OGMH en Chile. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

Ante la propuesta de ser productor de alimentos modificados genética y cultivar OGMH (Figura 61), la percepción, aunque relativamente positiva 45%, es seguida de cerca por las opciones en desacuerdo y muy en desacuerdo (39%), con un 16% que optó por la opción “No sabe”.

Respecto de la comercialización de OGMH, la percepción es similar respecto a su producción, con un 42% de los encuestados con una percepción positiva y un 40% con una negativa.

Otorgar alimentos que sean o contengan OGM a cultivos genera una percepción positiva ya que el 55% señaló estar de acuerdo o muy de acuerdo, y en el caso de usar productos farmacéuticos el 46% señala estar de acuerdo o muy de acuerdo, observándose un aumento de la opción No sabe con un 21%. Respecto a que el uso de OGMH aumente el riesgo de una condición monopólica por parte de algunas empresas sobre el control de la producción y el mercado, los encuestados manifestaron en un 67% estar de acuerdo o muy de acuerdo con la afirmación.

El tema de la producción de OGMH en Chile, país líder mundial en la producción de salmones de cautiverio, es un aspecto que debemos considerar y analizar. Sobre todo, considerando que la presente encuesta no entrega una tendencia clara respecto a tu rechazo o aceptación. Algunos productores han declarado que la modificación genética de sus planteles **podría** dotar a los cultivos de mayor resistencia a las plagas o patógenos que se enfrentan hoy, como el piojo de mar *Caligus rogercresseyi* y bacterias como *Piscirickettsia salmonis* reduciendo el riesgo de malas cosechas. Investigadores también indican que imitando las modificaciones genéticas introducidas en los organismos con valor agronómico (resistencia a plagas, tolerancia a herbicidas, tolerancia a temperaturas entre otros), se podría derivar en un menor gasto en productos químicos, y en consecuencia menor impacto en el medio ambiente y la salud humana.

Por otra parte, a través de modificaciones genéticas se podría incrementar el valor nutricional. Un ejemplo es el arroz donde introdujeron genes que producen el elemento precursor de la vitamina A. Esta variedad denominada arroz dorado, contiene más vitamina A. Dado que más del 50 por ciento de la población mundial se alimenta de arroz, esta técnica podría ayudar a combatir la carencia de vitamina A, que es un grave problema en el mundo en desarrollo (FAO,

2003). Mismos objetivos se podrían alcanzar con OGMH, y es lo que la Universidad de Stirling en Escocia está realizando desde el 2013 con estudios ya avanzados, donde prueban que el alimentar a salmones de cultivo con el aceite de semilla extraído de una planta modificada genéticamente aumenta los niveles de los ácidos grasos del tipo omega 3 en el salmón, ácidos grasos importantísimos en la dieta humana (Sprague et al., 2017).

Esta investigación se relaciona directamente con la alimentación de especies hidrobiológicas de cultivo, con OGM o derivados de OGM, los investigadores destacan que los procesos que se utilizan en la industria para la transformación de la materia prima (planta modificada genéticamente de *Camelina sativa*) a fin de obtener derivados (aceite de sus semillas), en especial los procesos de refinamiento, pueden llevar a la remoción total del material genético y/o las proteínas, ya sea las modificadas como las que naturalmente se encuentran en el alimento. Ello provoca que frecuentemente sea indistinguible si el producto elaborado se originó o no a partir de un OGM.

Se debe distinguir entre alimentos en cuya elaboración se ha empleado un OGM, o un producto derivado de un OGM, pero que, en el momento de llegar al consumidor no los contienen y cuyas propiedades (composición, inocuidad y valor nutricional) no difieren del alimento convencional, de aquellos que contienen o pueden contener proteínas provenientes del OGM, y en los que la modificación genética tiene el propósito de introducir nuevas propiedades deseables en el alimento, tales como valor nutricional, la elaboración y/o el consumo del alimento, modificando su composición, contenido de nutrientes, procesabilidad, etc. (Burachik, 2004)

Respecto al tratamiento de especies hidrobiológicas en cultivo con productos farmacéuticos modificados genéticamente, los encuestados tienen una mejor percepción que para alimentar estos cultivos con alimentos modificados genéticamente. FAO en el 2001, indica lo mismo, la ingestión o inyección de ciertos productos farmacéuticos derivados de animales transgénicos parece más aceptable para el público (FAO, 2001).

Respecto a la condición de monopolio de algunas empresas biotecnológicas respecto a la producción y comercialización de OGMH, el 67% de los encuestados, ve este tema como riesgoso. Uno de los puntos que se destaca en literatura se refiere a los derechos de autor. Los derechos de propiedad intelectual podrían demorar la investigación: la propiedad privada de los productos y los procesos biotecnológicos podría impedir a los investigadores del sector público

acceder a ese conocimiento, provocando así repercusiones negativas, mucho mayores en los países en desarrollo, en donde prácticamente no existen iniciativas privadas de investigación. Además, la mayor parte de estos países no protegen a sus productos y métodos biotecnológicos mediante patentes. El ingreso de los productos biotecnológicos amparados por derechos de propiedad intelectual podría ser impedido en aquellos mercados externos en donde rige la protección a través de patentes.

En el caso de agricultores y campesinos podrían perder el acceso al material vegetal, existe la preocupación de que unas cuantas empresas dominen este mercado, provocando consecuencias negativas para los campesinos y pequeños agricultores en todo el mundo ya que deberán pagar por las patentes de las semillas y no podrán utilizar estas semillas los años siguientes (FAO, 2003). Similar escenario se podría esperar para ovas, alevines, juveniles, reproductores, semillas entre otros en el ámbito de especies hidrobiológicas modificadas genéticamente.

Particularmente en el ámbito hidrobiológico, los impactos socioeconómicos asociados a la producción del salmón del Atlántico genéticamente modificado de AquaBounty, los pequeños acuicultores dependerán exclusivamente de la empresa que lo venda para producirlos. Por otra parte, dado su crecimiento más rápido y producción durante todo el año, el precio del salmón normal que ellos producen, podría disminuir afectando la producción y la comercialización (Le Curieux-Belfond et al. 2009).

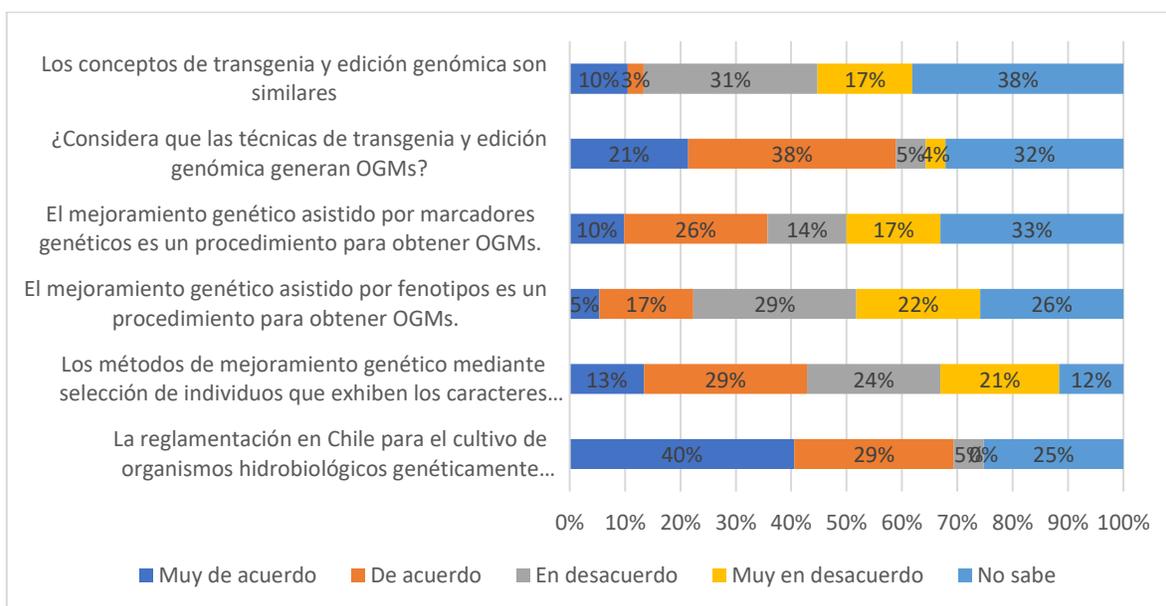


Figura 62. Grupo de preguntas sobre conceptos asociados a OGMs, técnicas para generar OGMs, mejoramiento genético mediante selección y reglamentaciones al respecto en Chile. “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

En relación con las respuestas de la Figura 62 respecto a la aseveración que los conceptos de transgenia y edición genómica son similares, las respuestas con mayor selección fueron en desacuerdo y muy en desacuerdo con un 48.08%, seguidas por un porcentaje de 38.46% de opción No sabe. Entendiéndose que la mayoría de los encuestados perciben que la transgenia y la edición genómica no son lo mismo.

Respecto a la aseveración que las técnicas de Transgenia y Edición genómica generen OGMs las opciones de acuerdo y muy de acuerdo representan el 58.56% y un 32.43% indican No sabe. Entendiéndose que la mayoría de los encuestados perciben que la transgenia y la edición genómica generarían organismos genéticamente modificados.

En relación con la aseveración que el mejoramiento genético asistido ya sea por marcadores genéticos o por fenotipos generan OGMs, los resultados obtenidos muestran una alta dispersión en las respuestas. Para la opción de que la asistencia en la selección por marcadores genéticos si generan OGMs, el 36.04% señala estar de acuerdo y muy de acuerdo, el 31.53% indica estar en desacuerdo y muy en desacuerdo y el 32.43% responde No sabe. Para la opción de que la asistencia en la selección por fenotipos si generan OGMs, el 51.35% indica estar desacuerdo y muy en desacuerdo, y el 26.13% respondió No sabe. Entendiéndose que la mayoría de las personas encuestadas perciben que la selección asistida por fenotipos no generaría OGMs. La dispersión de las respuestas al hecho que la selección asistida por marcadores genéticos si generarían OGMs, demuestra la falta de conocimiento respecto a este tipo de procedimientos.

Lo anterior es coincidente con el hecho de que el 45% de los encuestados indican que los métodos de mejoramiento genético asistido por fenotipos no debiesen ser considerados como métodos de modificación genética en la legislación chilena. Al momento de considerar los aspectos normativos, destaca que el 65.77% de las respuestas señala estar de acuerdo y muy de acuerdo que la reglamentación de Chile debe distinguir entre mejoramiento genético asistido por marcadores genéticos y el mejoramiento genético asistido por fenotipos.

Al respecto el Protocolo de Cartagena excluye de la definición de OGM, las técnicas utilizadas en la reproducción y selección tradicional, pero no hace diferencias entre la asistencia por fenotipos y/o genotipos.

Del análisis general de la encuesta se puede mencionar que la menor representación de algunos sectores, como los productores o comercializadores, pudiera subvalorar los resultados de las preguntas que iban dirigidas a la actividad productiva. Por otro lado, la mayor incidencia de participantes del sector académico pudiera sobrevalorar los resultados en las preguntas sobre el conocimiento de OGMs, investigación y en técnicas utilizadas para generar OGM.

De los resultados obtenidos, un 92% de los encuestados señala saber que es un OGM, en cuanto a ejemplos de alimentos genéticamente modificados, la Soya, el Maíz, el Tomate y los salmones resaltan en frecuencia de mención por parte de quienes respondieron a la consulta.

Respecto de la identificación de un OGM, alrededor de un 50% declara saber cómo identificar o identifica algunos y el otro 50% indica que no sabe. Este aspecto resulta relevante al momento de proponer estrategias de enseñanza sobre qué es un OGM, qué alimentos son genéticamente modificados y las perspectivas que tiene Chile en esta materia en el ámbito de la acuicultura.

Interesante fueron las respuestas sobre como identificar un OGM. Entre las respuestas señaladas está el etiquetado como la forma de identificación, aspecto que en la regulación chilena aún no es obligatorio, ni se ha normado para el mercado interno y externo. Entre las técnicas mencionadas para identificar OGM señalan el análisis de ADN, PCR, técnicas moleculares, western blot, ELISA. Estas respuestas también nos hacen ver la necesidad de informar y educar a la comunidad de las formas de identificación de los OGM y la necesidad de contar con normativa que ayuden a que el consumidor se informe sobre el alimento que consume, y elija libremente.

En materia de riesgos, aproximadamente un 48% de los encuestados señala que no existe riesgo para la salud humana y un 30% opina lo contrario. Al consultar sobre si los efectos son negativos o positivos, sobre el 32% de las respuestas corresponden a la opción No Sabe. Ante la consulta sobre traspaso de genes al humano, las respuestas en un 65% optaron por la opción que no hay.

Una tendencia de mayor significancia la encontramos en las preguntas sobre los riesgos para el medio ambiente, ya que los encuestados, con sobre un 60%, consideran que los OGM son un

riesgo para el medio ambiente, tanto en el ámbito de la producción de alimentos como riesgos ecológicos.

En las preguntas sobre investigación, aproximadamente el 78% de las respuestas considera que se debe realizar investigación y que la producción de OGM debe estar respaldada en investigación científica.

En materia sobre la factibilidad del cultivo de OGMH, un 54% lo considera factible, 84% señala que el cultivo de OGM se debe realizar en sistemas de cultivo cerrados, y 91% considera que estos cultivos deben ingresar al SEIA, Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental.

En cuanto a la factibilidad de llevar el cultivo de OGMH a un nivel productivo, los resultados muestran mayor dispersión, así un 44% de los encuestados lo considera factible, un 38% está en desacuerdo muy en desacuerdo y el 18% no sabe.

En las preguntas sobre conceptos y técnicas empleados para obtener OGM, 48% considera que los conceptos de transgenia y edición genética son distintos, y un 38% no sabe. El 58% considera que ambos, transgenia y edición genética generan OGM y un 66% considera que la normativa debe distinguir entre mejoramiento genéticos asistido por marcadores genéticos del mejoramiento asistido por fenotipos.

TALLER PARTICIPATIVO

Con el objeto de establecer las perspectivas e interés público privado para realizar investigación, cultivo y comercialización con OGM en la acuicultura chilena, se diseñó y realizó (28 de enero 2020, Universidad de Concepción) un taller en el que participaron actores relevantes identificados en la fase de búsqueda de información del proyecto, tanto del sector público, privado y académico (Figura 66).

El taller se abordó desde un enfoque participativo, utilizando técnicas y herramientas disponibles para este tipo de actividades (Chevalier y Buckles, 2013; Geilfus, 2002). Esto con la finalidad de lograr un diálogo colaborativo entre los actores relevantes seleccionados, de acuerdo con los criterios establecidos con la contraparte técnica; se debe indicar que la muestra de representantes fue seleccionada de manera intencionada, es decir, no probabilística (Taylor *et al.*, 2016).

La actividad permitió la identificación, el análisis, la medición y la validación directa de los aspectos de las perspectivas de interés público y privado. Adicionalmente se accedió a documentos relevantes no revisados, para aclarar hallazgos preliminares, e identificar las brechas y proyecciones directamente por parte de éstos (Morgan 2014). Por otra parte, el diálogo colaborativo permitió complementar la información secundaria levantada respecto al diagnóstico, las opiniones de las encuestas y obtener información de las fortalezas y debilidades detectadas por los representantes invitados.

El diseño del Taller consideró un primer bloque, con exposiciones de un invitado internacional y de invitados nacionales.

De la lista de expertos internacionales identificados durante fase de búsqueda de información del proyecto y la elaboración de los objetivos 1 y 2, se consideraron los siguientes nombres para cursar la invitación a participar en el Taller.

- Arne Holst-Jensen, Norwegian Veterinary Institute, Noruega
- Alexandre Bota Arqué, Instituto de Tecnoética, Barcelona, España
- Raúl Llera-Herrera, Universidad Nacional Autónoma de México
- María Pla, Universidad de Girona, Centre for Research in Agricultural Genomics (CRAG), España
- John A. Beardmore, University of Wales, Swansea, Reino Unido, Consultor FAO
- Joanne S. Porter, University of Wales, Swansea, Reino Unido, Consultor FAO

- Henry Clifford, Aqua Bounty Technology Inc. USA

De los anteriores, el Dr. Raúl Llera-Herrera aceptó la invitación a participar del taller con su exposición titulada “Mejoramiento genético del camarón blanco en México”.

Un segundo expositor que aceptó la invitación al taller fue el Sr. Gonzalo Pardo Hernández en representación del Servicio Agrícola Ganadero de Chile cuya exposición se tituló “Bioseguridad de los OGMs agrícolas en Chile ¿Aplicable a los cultivos acuáticos?”.

En el segundo bloque del taller, se consideró una instancia de participación de grupos entre los asistentes. El foco de esta actividad se centró en la identificación y análisis de brechas en la investigación, cultivo, producción, comercialización e importación de OGMH en Chile; en cuanto a los logros esperados: i) Identificar el estado o situación actual; ii) Definir el estado u objetivo futuro deseado; iii) Identificar la/s brecha/s existente/s entre la situación actual y el objetivo deseado; y iv) Determinar las acciones o estrategias requeridas para alcanzar el objetivo deseado.

La planificación de esta etapa consideró como parte relevante de los resultados de taller:

1. Obtener con un análisis sobre las Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas relativas al uso de organismos hidrobiológicos genéticamente modificados en Chile.
2. Recoger perspectivas, intereses, proyecciones y brechas que consideren los diferentes actores representados.

La elección de los participantes por grupo consideró a representantes de todos los sectores.

Las actividades realizadas dentro del segundo bloque del taller fueron:

Ejercicio 1: Trabajo grupal de 20 minutos. Se utilizó tarjetas diferenciadas por color para cada grupo, se esperaba una o más propuestas por ítem.

FODA: Considerar Fortalezas, Oportunidades, Debilidades, Amenazas

Ejercicio 2: Desarrollar una matriz con las diferentes propuestas por grupo.

Ítem	Brecha	Proyección	Perspectiva
Investigación			
Producción			
Comercialización			
Importación			



Invitación

La Universidad de Concepción, y el Fondo de Investigación de Pesca y Acuicultura, tienen el agrado de invitar a usted a participar del taller “Diagnóstico del uso de Organismos Genéticamente Modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile”, realizado en el marco del proyecto “Análisis del estado de la situación mundial y proyecciones de la producción y uso de organismos genéticamente modificados con énfasis en la acuicultura”.

El taller tiene como objetivo analizar las perspectivas e intereses de acuicultores, investigadores, ONGs, y entidades públicas entre otros para realizar investigación, cultivo y comercialización con Organismos Genéticamente Modificados en la acuicultura chilena.

El taller se realizará el día **martes 28 de enero desde las 09:30 horas**, en la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción, edificio de la ballena.

S.R.C:
412203496
acuigen@udec.cl



Figura 63. Invitación al Taller “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

La invitación (Figura 63) y el programa del taller (Figura 64) se distribuyó a actores seleccionados a través del envío a sus correos electrónicos. Paralelamente se envió a instituciones públicas para su difusión entre los profesionales que trabajan en los temas de acuicultura o afines, y se sociabilizó a través de redes sociales con el objeto de dar la mayor cobertura posible.

TALLER ABIERTO

DIAGNÓSTICO DEL USO DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS (OGMS) EN LA ACUICULTURA DE CHILE

09:00 - 09:30: Recepción e inscripciones.

09:30 - 09:45: Bienvenida. Dra. Margarita Marchant San Martín. Decana, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas. Universidad de Concepción.

09:45 - 10:00: Bienvenida. Subsecretaria de Pesca y Acuicultura.

10:00 - 10:30: Descripción del proyecto y objetivos. Expone Ricardo Galleguillos G. Universidad de Concepción.

10:30 - 11:00: Técnicas y usos de OGMS en acuicultura. Expone Sandra Ferrada Fuentes. Universidad de Concepción.

11:00 - 11:45: Mejoramiento genético del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei* en México. Expone Raúl Llera Herrera, Universidad Nacional Autónoma de México.

Pausa para el café: **11:45 - 12:00**

12:00 - 12:40: Bioseguridad en cultivos agrícolas genéticamente modificados. Expone Gonzalo Pardo Hernández. Servicio Agrícola Ganadero.

12:40 - 13:30: Discusión y conclusiones de la jornada mañana.

Catering

15:00 - 15:30: Resultados de la encuesta de percepción de OGMS en acuicultura. Expone Lilian Troncoso, Universidad de Concepción.

15:30 - 17:30: Análisis sobre las perspectivas e interés público y privado para realizar importación, investigación, cultivo y comercialización con OGMS en la acuicultura chilena. Trabajo Grupal

17:30 - 18:00: Discusión y Conclusiones.

S.R.C:
412203496
acuigen@udec.cl



Martes 28 de
enero de 2020



Facultad de Ciencias Naturales y
Oceanográficas. Edificio de la ballena,
Universidad de Concepción

Proyecto FIPA 2018-52



Figura 64. Programa del Taller “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

RESULTADOS

Como resultado de la convocatoria al Taller, participaron durante toda la jornada 29 asistentes.

Figura 65. Listado de asistentes al Taller “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile”
Proyecto FIPA 2018-52.



Lista de asistencia Taller Diagnostico del uso de organismos genéticamente modificados (OGMs) en la Acuicultura de Chile
 Fecha: 28-01-2020

N	Nombre	Institución/Empresa	Teléfono contacto	Correo electrónico
1	Amanda Esconza Sius	Pontificia Universidad Católica de Chile	969112096	apesconza@uc.cl
2	Tatiana Novoselava	COLEGIO ESPAÑA	+56 956617064	tatinovoselava@gmail.com
3	SEBASTIÁN ESCOBAR	PUC	+56 984294149	SEBASTIAN.ESCOBAR@uc.cl
4	CRISTIAN ANGELO AYALA	ULagos	+56 963405857	cris@ulagos.cl
5	Federico Winkler H	UDEL	+56 981397833	fwinkler@u-del.cl
6	Gonzalo Pardo H.	SAB	+56 972153405	ggonzalo.pardo@sab.gov.cl
7	Raúl Llera Herrera	UNAM, México	+52 16123487021	raul.llera@gmail.com
8	ISIDORA RIVERA MONTALBA	COLEGIO ADVENTISTA	+56 963911464	isidorarivera205@gmail.com
9	Juan Pablo Valenzuela Gomez	Universidad de Concepcion	+56 978654008	jvalenzuelag@udec.cl
10	Sofía Valenzuela	Udec.	+56 971572126	sosofia@udec.cl
11	Carlos Méndez Candia	Liceo Tecnopolitécnico	998832491	cmendezcandia@xalco.e
12	Nicole C. Castillo Villagrán	Udec	995772041	nicastrillo@udec.cl
13	Dominique Suarez Arce.	colegio Adventista	994970037.	dominique-suarez@cadec.cl



Lista de asistencia Taller Diagnostico del uso de organismos genéticamente modificados (OGMs) en la Acuicultura de Chile
Fecha: 28-01-2020

29	Milton Gabriel Montaña Romero	Udec	0992557351	mmontana@udec.cl
30	Ludmila Houaselora	Licenciada Experimental L.B.	995145349	EladaLolita@gmail.com
31	Sandra Favela Fuentes	Udec	977649294	Sandra Favela Fuentes
32	Alexandre Llauros R	Udec	alllauros@udec.cl	Alexandre Llauros R
33	Anapaula Vega Flores	Colegio Adventista Conc	967 405248	anapaulav@udec.cl
34	Alexandro Mont D.	Alimentix Jumbin	9.407.064-3	Alexandro Mont D.
35	Alexander Zamora	Sub pastor	32 22502790	Alexander Zamora
36	Fernando Kuschner	Centro Bion AD Soc	16342159	Fernando Kuschner
37	Francisco Soto	Salmonexpert	097002819	francisco@salmonexpert.cl
38	Javier Barros	Udec	0962146343	jbarros@udec.cl
39	Wanda Arceles Wells	Sernapesca	92191186	LASTORRA@sernapesca.cl
40	Victoria Alfaro Ahumada	Udec	967667752	vialfaro@udec.cl
41	Eduardo Terifeño Silva	Udec	998683819	eterifene@udec.cl
42				
43				



Lista de asistencia Taller Diagnostico del uso de organismos genéticamente modificados (OGMs) en la Acuicultura de Chile
Fecha: 28-01-2020

14	Monte Oviedo Jara.	Headix Genetics	96433763	monte.oviedo@headix-genetics.com
15	Mawreen Alcaayaga	SubPESCA		mawreen@subpesca.cl
16	Ricardo Lopez	Salmon Chile	942858580	rlopez@salmonchile.cl
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				

Entre los comentarios a las exposiciones de los resultados de las encuestas y aportes se destaca que los participantes consideraron de interés que un alto porcentaje de las respuestas indicaran saber qué son los OGM. Asimismo, el que se señalara como altamente positiva la realización de investigación en todos los ámbitos. Además, se compartió la percepción asociada de que en Chile los proyectos de cultivo con OGMH deberían ser en sistemas de confinamiento en tierra, cerrados y ser sometidos al Sistema de Evaluación Ambiental, principalmente como Estudios de Impacto Ambiental.

En el Ejercicio 1 del trabajo en grupos, se sistematizaron los aportes de acuerdo con los escritos en las tarjetas entregadas. Los principales aportes fueron:

Fortalezas:

1. Chile cuenta con la infraestructura de laboratorios para investigación básica y aplicada necesaria para la producción de especies acuícolas.
2. Se cuenta con profesionales e investigadores que manejan el conocimiento requerido y que pueden realizar investigación científica y desarrollo tecnológico en OGMs.
3. Se tiene acceso a las tecnologías necesarias para aplicar diferentes técnicas de modificación genética.
4. Existen en el país tecnologías que permiten controlar cultivos de OGM de acuerdo con las necesidades de producción, bioseguridad y bioéticas
5. El país cuenta con gran diversidad de especies hidrobiológicas de interés económico para investigar en contexto acuícola y OGM.
6. Chile posee una amplia experiencia en el negocio acuícola y con liderazgo mundial en este campo.

Oportunidades:

1. Existe el conocimiento y experiencia adquirida en el cultivo de salmones que se puede aplicar para potenciar la investigación y aplicación de OGM en otros recursos.
2. Se conocen las técnicas para la edición del ADN para su aplicación en la acuicultura.
3. Existen posibilidades de abrir nuevos negocios con base biotecnológica y lograr nuevos mercados.

4. Se pueden utilizar menos medicamentos, con menor contaminación derivada del uso de éstos.
5. Los OGM pueden mejorar la competitividad de la industria acuícola nacional y facilitar los cambios tecnológicos que se vislumbra en ella.
6. La incorporación de OGMs puede otorgar mayor sustentabilidad a la actividad acuícola nacional facilitando la diversificación de especies objetivo.
7. El uso de OGM puede contribuir a la disminución de la huella de carbono de la actividad acuícola.
8. El uso de OGMs puede incrementar el potencial para investigación en procesos fisiológicos y de otra naturaleza en especies de interés acuícola.

Debilidades:

1. El conocimiento sobre los OGM es escaso en la sociedad actual y debería ser incluido como tema por analizar en los programas de Educación.
2. La normativa pesquera y acuícola en esta materia no tiene una estructura sólida, ni coherencia, lo que hace perder oportunidades.
3. La normativa existente no es suficiente y se encuentra atrasada respecto del avance del conocimiento científico.
4. La obsolescencia de la regulación y el escaso estímulo a trabajar en este campo frena el desarrollo de la investigación científica y tecnológica
5. La falta de conocimiento sobre los OGM en Chile impide definir criterios regulatorios con fundamentos científicos sólidos.
6. Existe una mala percepción social respecto de los OGM, ej. Inducción de alergias, es un freno a su desarrollo y su uso en beneficio de la sociedad y el ambiente.
7. Falta la información sobre el genoma de referencia para muchas especies nativas, lo que limita el potencial de búsqueda *in silico* de soluciones biotecnológicas basadas en el uso de OGMs.
8. Falta de investigación científica rigurosa sobre el comportamiento e impacto de los OGM en el medio natural y en cultivo.

Amenazas:

1. La percepción negativa del público y la mala imagen respecto de los OGM en los medios de difusión limitan fondos para la investigación científica y cierran las puertas a la producción y al comercio.
2. La posibilidad de escapes de OGM y el riesgo de impactos desconocidos sobre la flora y fauna silvestres.
3. Que surjan competidores de otros países con mayor avance en el desarrollo y aplicación de las tecnologías para producir OGMs y comercializarlos, excluyendo al país como un actor significativo en este campo.
4. Perder liderazgo en la industria acuícola del salmón y otras especies, al quedar atrás en el desarrollo productivo de OGMs,
5. Que se mantenga el rechazo social por la producción de OGM
6. Incertidumbre por los riesgos asociados a la producción de OGM acuícolas para la salud humana y el medio ambiente.

Posterior al trabajo grupal, se realizó la discusión ampliada de los puntos antes indicados. De los aportes colaborativos, se consolidó la siguiente matriz.

FORTALEZAS	OPORTUNIDADES
Chile cuenta con la institucionalidad de gobernanza adecuada para el seguimiento y desarrollo de OGM.	Desarrollo de herramientas tecnológicas para la aplicación en este campo.
En Chile se cuenta con infraestructura para la investigación y producción de especies acuícolas.	Disposición a la modificación normativa en el tema de los OGM.
Se cuenta con profesionales e investigadores que manejan el conocimiento para investigación científica y tecnológica en OGM.	Interés por promover la investigación genética.
	Interés por propiciar la disminución huella Carbono.
	Generación de planes de capacitación de personas en investigación y producción acuícola.

<p>Producción de cultivo acuícola consolidada y de liderazgo mundial.</p> <p>Alta diversidad de especies hidrobiológicas de interés económico disponibles para cultivo.</p> <p>Investigación en genética y biotecnología en ejecución.</p>	<p>Potenciar y ampliar áreas de investigación en OGM.</p> <p>Mantener el liderazgo nacional en la industria del Salmón acuícola con la producción de OGM</p>
DEBILIDADES	AMENAZAS
<p>Marco regulatorio actual deficiente o inexistente.</p> <p>Percepción negativa de la opinión pública hacia los OGM.</p> <p>Poco conocimiento sobre la actividad de acuicultura en escuelas y sociedad en general.</p> <p>Poco nivel de cumplimiento normativas pesquera y ambiental.</p> <p>Aumento de costos de producción para desarrollo de cultivo de OGM.</p>	<p>Normativa regulatoria poco flexible que no permite respuestas oportunas.</p> <p>Dificultades para diversificar especies de interés comercial a cultivar.</p> <p>Permanencia del rechazo social por el uso de OGM.</p> <p>Perdida de liderazgo por avances de competidores en producción de OGM.</p> <p>Riesgos de escapes reiterados de la industria salmonera generan impacto negativo a la actividad.</p> <p>Poco interés por invertir en las diferentes áreas, tanto a nivel público como privado.</p>

El análisis general de los resultados del taller muestra un escenario adecuado para el mayor desarrollo de investigación y producción en cultivo de OGMH, dadas las fortalezas indicadas

por los participantes, como son el conocimiento en investigación y en tecnologías y la infraestructura para su ejecución. Además, se cuenta con profesionales e investigadores que manejan conocimiento científico y tecnológico necesario para el desarrollo de OGMH. Se reconoce la existencia de una institucionalidad y normativa que, sin embargo, requiere de una gobernanza específica para el desarrollo en investigación y producción de OGMH, como, por ejemplo, contar con un Comité Consultivo científico-Técnico, como lo tiene el Servicio Agrícola y Ganadero para los efectos de la regulación de OGMs de origen vegetal

Los participantes visualizaron también, oportunidades de negocio y nuevos mercados, de desarrollo tecnológico y biotecnológico para su aplicación en este campo, la generación de planes de capacitación en investigación y en la producción. El interés por promover la investigación en todos los ámbitos para el desarrollo de OGMH, se consideró de alta relevancia la disposición a la modificación normativa pesquera y acuícola en la materia. La disminución de la huella de carbono fue relacionada con la disminución de tiempo de producción y del uso de fármacos en la industria acuícola.

Entre los aspectos que generan preocupación entre los asistentes, está el marco regulatorio existente para los OGMH, que se señala como inexistente, deficiente, obsoleto, poco flexible, ya que no hay reglamentación que acompañe a lo que se señala en vigente la Ley General de Pesca y Acuicultura.

En la línea de la normativa, surgió como debilidad el bajo nivel de cumplimiento de las normativas pesqueras y ambientales por parte del sector productivo relacionado con la acuicultura en Chile.

Dado los resultados de las encuestas y del análisis grupal, se destaca la importancia de informar a la comunidad y, en especial, a los educandos en los distintos niveles de educación formal, sobre los OGM, ya que una de las amenazas detectadas es la percepción negativa que se tiene con la industria de cultivos, especialmente salmones y de los OGMs en la industria agrícola.

Los riesgos asociados a los escapes de OGMs y su desconocido efecto sobre la biodiversidad y el medio ambiente resaltan también en los análisis y discusiones. Otro aspecto que fue considerado como amenaza, es la falta de inversión pública y privada para el desarrollo de investigación aplicada en el cultivo de OGMH.

Ejercicio 2

El trabajo en esta etapa se realizó en tres grupos, las ideas fueron ordenadas de acuerdo con la matriz definida para este bloque: brecha, proyección y perspectiva. Cada grupo trabajó en forma independiente y fue apoyado por un facilitador del equipo de trabajo. Se eligió un secretario para la toma de notas y un presentador para la parte final ampliada.

El objetivo del Ejercicio 2 fue detectar las brechas, perspectivas de su desarrollo y las proyecciones de interés comercial, de investigación y manejo en el país de OGMH. Con estos insumos se espera que la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura genere estrategias y/o acciones necesarias para avanzar en la disminución de brechas y generar propuestas de desarrollo e investigación para el manejo de los cultivos de OGMH.

Los resultados del taller para este ejercicio se resumen a continuación en la Tabla 13.

Tabla 13. Matriz de resultados del trabajo grupal en términos de brechas, proyecciones y perspectivas en el desarrollo de OGMH en Chile.

ITEM	Brecha	Proyección	Perspectivas	Brecha	Proyección	Perspectivas	Brecha	Proyección	Perspectivas
Investigación	Baja inversión del Estado en investigación Baja inversión del mundo privado en nuevas investigaciones	Extrapolar los conocimientos que se tienen de la industria salmonera a la investigación y producción de OGM en otras especies	Desarrollo de cultivo de nuevas especies mejoradas genéticamente	Falta ciencia básica en otras especies no salmones y de interés para cultivo	Se requiere mayores recursos económicos para investigación científica y tecnológica	Aumento en el contexto mundial/ disminuiría en Chile	Se requiere un marco regulatorio ya que actualmente no se puede hacer nada	Como no hay marco regulatorio no hay proyecciones	Hay infraestructura y conocimiento técnico
Producción	Oportunidad de incorporar estas nuevas tecnologías a cultivos hidrobiológicos	Venta de nuevos organismos (OGM) Aumento de ventas (más eficiencia) Optimizar tiempos	Optimizar aspectos económicos, Biológicos ej. Más resistentes	Carencia de marco regulatorio	Aumento de producción, pero en país en desarrollo	Aumentar/ Disminuiría	Se requiere un marco regulatorio ya que actualmente no se puede hacer nada	Como no hay marco regulatorio no hay proyecciones	Existe enfoques/nichos donde usar OGM
Comercialización			Nuevos países de mercado y falta llegar a otros lugares	Limitado nivel de conocimiento sobre países que aceptan OGM en su mercado	Se requiere inocuidad alimentaria	Aumento/No se sabe -se mantiene	Se requiere un marco regulatorio ya que actualmente no se puede hacer nada	Como no hay marco regulatorio no hay proyecciones	
Importación	Falta de tratados internacionales que incluyan OGM	Podría ser un desafío para nuestra industria	Aumento de competencia dentro del mercado nacional	Falta normativa	Que se mejore la normativa	Aumenta/ disminuye se mantiene	Se requiere un marco regulatorio ya que actualmente no se puede hacer nada	Como no hay marco regulatorio no hay proyecciones	Se prohíbe

Como resultado del análisis del trabajo grupal en la sesión ampliada y de las colaboraciones realizadas a los diferentes grupos de trabajo, se estableció lo siguiente:

BRECHAS

1. Falta de regulación para los cuatro aspectos consultados: investigación, producción, comercialización e importación. Si bien para los organismos hidrobiológicos existen prohibiciones, no hay reglamentación sobre el uso de OGMs hidrobiológicos, ni mecanismos que permitan abordar diferenciadamente la investigación básica de la aplicada y del cultivo comercial.
2. Falta información básica sobre que organismos hidrobiológicos pueden ser cultivados en diferentes territorios del país.
3. Existe una inadecuada difusión de la información sobre los cultivos marinos y sobre los OGMs a la comunidad en general.
4. Se requiere conocer, si existe mercado para la comercialización de OGM marinos o sus subproductos, tanto a nivel nacional como internacional.
5. Se requiere de investigación en distintos ámbitos sobre OGMs hidrobiológicos e idealmente con un enfoque definido hacia la acuicultura.
6. Se requiere redefinir el concepto de OGM en la legislación nacional, actualizando el concepto antes las nuevas herramientas de la biotecnología, y acorde con los convenios y tratados internacionales. Esto facilitara su aplicación en la respectiva normativa.
7. Déficit de inversión para financiar la investigación científica y tecnológica en OGMs hidrobiológicos, tanto del sector público como privado.

PROYECCION:

1. Dada la normativa actual respecto a los OGMs, se espera una revisión del marco regulatorio para generar propuestas que permitan distinguir el desarrollo de investigación básica, de la investigación aplicada y su escalamiento productivo.

2. Se esperan avances en la materia de inocuidad alimentaria para la comercialización de OGMs.
3. Se espera que, si Chile aborda la investigación y el desarrollo productivo de OGMs, se dispondrá de mayores recursos financieros para abordar la investigación, producción, comercialización, e importación.
4. Considerar la producción en países en desarrollo y las oportunidades que ofrecen como mercado.
5. El uso de OGMs podría aumentar la eficiencia en términos de costo-beneficio, disminución huella de carbono, menores impactos al medio ambiente, mejora de tecnologías para su cultivo.
6. El cultivo de los OGMs podría ser una oportunidad para satisfacer la creciente demanda de alimento y mitigar el cambio climático (huella de carbono, huella de agua).

PERSPECTIVAS

1. Potencial uso de OGMs para la producción de fármacos u organismos resistentes, considerando las enfermedades ya existentes y las que puedan venir.
2. Permitirían hacer rentables cultivos de otras especies marinas que hoy, por sus características de crecimiento y susceptibilidad a factores ambientales, no lo son.
3. Avanzar en mejorar el crecimiento de algunas especies en cultivo actualmente.
4. Apertura de nuevas oportunidades de negocios en servicios y producción, además de identificar mercados para su comercialización.
5. Mantener o lograr mayor liderazgo en la producción acuícola, de las especies que hoy se cultivan como de otras de interés comercial.



Figura 66. Asistentes al Taller “Diagnóstico del uso de Organismos genéticamente modificados (OGMs) en la acuicultura de Chile” Proyecto FIPA 2018-52.

REFERENCIAS

- Aerni, P. (2004). Risk, regulation and innovation: The case of aquaculture and transgenic fish. *Aquatic sciences*, 66(3), 327-341.
- Blendon, R.J., Sc.D., Mary T. Gorski, Sc.M., and John M. Benson, M.A. 2016. The Public and the Gene-Editing Revolution. *The New England Journal of Medicine*. 14;374(15):1406-11. doi: 10.1056/NEJMp1602010.
- Dannenberg A, Scatista S, Sturm B. (2011). Etiquetado obligatorio versus voluntario de alimentos genéticamente modificados: evidencia de un experimento económico. *Agric Econ.*, 42: 373-386. 10.1111 / j.1574-0862.2010.00520.x.
- Finucane, M. L., Alhakami, A., Slovic, P., & Johnson, S. M. (2000). The affect heuristic in judgments of risks and benefits. *Journal of behavioral decision making*, 13(1), 1-17.
- Ford, C.S., Allainguillaume, J., Grilli-Chantler, P., Cuccato, J., Allender, C.J., & Wilkinson, M.J.(2006). Spontaneous gene flow from rapeseed (*Brassica napus*) to wild *Brassica oleracea*. *Proc. Biol. Sci.*, 273. 3111e3115. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2006.3686>.
- Gruere G, Carter C, Farzin Y (2008) ¿Qué política de etiquetado para la elección del consumidor? El caso de los alimentos genéticamente modificados en Canadá y Europa. *Can J Econ.* 2008, 41 (4): 1472-1497. 10.1111 / j.1540-5982.2008.00512.x.
- Gruere G. & S. Rao. (2007) Una revisión de las políticas internacionales de etiquetado de alimentos genéticamente modificados para evaluar la norma propuesta por la India. *AgBioforum*. 2007, 10 (1): 51-64.
- Han, S.M., Lee, B., Won, O.J., Hwang, K.S., Suh, S.J., Kim, C., & Park, K.W. (2015). Gene flow from herbicide resistant genetically modified rice to conventional rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *J. Ecol. Environ.*, 38. 397e403.
- Keese, P. (2008). Risks from GMOs due to horizontal gene transfer. *Environ. Biosaf. Res.*, 7. 123e149.
- Le Curieux-Belfond, O., Vandelaer, L., Caron, J., & Séralini, G. É. (2009). Factors to consider before production and commercialization of aquatic genetically modified organisms: the case of transgenic salmon. *environmental science & policy*, 12(2), 170-189.
- Lovei, G.L., Bøhn, T., & Hilbeck, A. (2010). *Biodiversity, Ecosystem Services and Genetically Modified Organisms*. Third World Network, 131 Macalister Road 10400 Penang, Malaysia. ISBN: 978-967-5412-13-4.
- Martin, A., Serano, J.M., Jarvis, E., Bruce, H.S., Wang, J., Ray, S., ... Patel, N.H. (2016). CRISPR/Cas9 Mutagenesis Reveals Versatile Roles of Hox Genes in Crustacean Limb Specification and Evolution. *Curr Biol.*, 26(1), 14-26. doi:10.1016/j.cub.2015.11.021
- Matas, A. 2018. Diseño del formato de escalas tipo Likert: un estado de la cuestión. *Revista Electrónica de Investigación Educativa*, 20(1), 38-47. <https://redie.uabc.mx/redie/article/view/1347>

- McCaughey, T. Paul G. Sanfilippo, George E.C. Gooden, Timothy Baldwin, Alice Pébay, Alex W. HewittA 2016. Global Social Media Survey of Attitudes to Human Genome Editing. *Cell Stem Cell*. VOLUME 18, ISSUE 5, P569-572.
- Mertens, M. (2008). *Assessment of Environmental Impacts of Genetically Modified Plants*. BfN - Skripten 217. Federal Agency for Nature Conservation, New York, USA.
- National Academy of Sciences (2016). *Genetically Engineered Crops: Experiences and Prospects*. The National Academies Press, 500 Fifth Street NW Washington, DC20001.
- Phillips, P. W., & Isaac, G. (1998). GMO labeling: threat or opportunity?. *AgBioForum*, (1), 25-30
- Sanchez, M.A., Cid, P., Navarrete, H., Aguirre, C., Chacon, G., Salazar, E., ... Prieto, H. (2016). Outcrossing potential between 11 important genetically modified crops and the Chilean vascular flora. *J. Plant Biotech*, 14. 625e637.
- Schnettler B; O. Sepúlveda; D. Ruiz. 2009. Conocimiento y aceptación de alimentos genéticamente modificados en consumidores de la ix región de Chile. *Idesia (Chile)* Vol. 27, N° 2; 5-15, 2009. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292009000200001>.
- Todt, O., & Luj, J. L. (2000). Spain: commercialization drives public debate and precaution. *Journal of Risk Research*, 3(3), 237-245.
- Tsatsakis, A.M., Nawaz, M.A., Tutelyan, V.A., Golokhvast, K.S., Kalantzi, O.I., Chung, D.H., ... Chung, G. (2017). Impact on environment, ecosystem, diversity and health from culturing and using GMOs as feed and food. *Food Chem. Toxicol.*, 107 (Pt A), 108-121. 10.1016/j.fct.2017.06.033
- Yan, S., Zhu, J., Zhu, W., Li, Z., Shelton, A.M., Luo, J., ... Liu, X. (2015). Pollen-mediated gene flow from transgenic cotton under greenhouse conditions is dependent on different pollinators. *Sci. Rep.*, 5 (15917). <http://dx.doi.org/10.1038/srep15917>.

REFERENCIAS WEB

- <https://www.greenpeace.org/mexico/publicacion/960/encuesta-sobre-alimentos-transgenicos><https://es.surveymonkey.com/r/ZTQHZQ5os/>
- <http://www.uchile.cl/www/trangenicos.html>
- <https://www.oei.es/historico/salactsi/20oms.htm>
- <http://infoalimentos.org.ar/temas/del-campo-a-la-mesa/126-cultivos-y-alimentos-transgenicos>
- <https://www.consumerreports.org/es/alimentos/las-preguntas-mas-frecuentes-sobre-los-organismos-transgenicos--/>
- https://gmoanswers.com/sites/default/files/GMOA_Spanish_QA_translations_2-22-16.pdf
- <https://www.cepal.org/es/publicaciones/4327-comercio-productos-transgenicos-estado-debate-internacional>

<https://consultorsalud.com/alimentos-transgenicos-20-preguntas-oms/>

https://cadenaser.com/programa/2017/06/19/hoy_por_hoy/1497863760_194236.html

<https://alimentostransgenicos.info/preguntas-y-respuestas/>

<http://www.olca.cl/oqa/transgenicos/trans11.htm>

<https://genial.guru/creacion-recetas/3-maneras-sencillas-de-distinguir-los-alimentos-transgenicos-de-los-normales-446660/>

<https://www.etcgroup.org/es/content/new-guide-ids-gmos-20-food-and-cosmetics>

ANEXO 1: Personal Participante por actividad

Nombre	Actividad por profesional o técnico	HH mensual por actividad										Totales por nombre	
		MESES											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		11
Ricardo Galleguillos G.	Coordinación	8	4	4	4	4	4	4	4	4	6	6	52
	Búsqueda y análisis de información		12	12	12	6	12	12	12	12			90
	Talleres	8									10	6	24
	Informes					6					6	10	22
	Total HH por mes	16	16	16	16	16	16	16	16	16	22	22	188
Sandra Ferrada F.	Coordinación	3	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	19
	Búsqueda y análisis de información	12	12	12	12	12	6	6	6	6			84
	Talleres	3									10	6	19
	Informes					8					6	12	26
	Total HH por mes	18	14	14	14	22	7	7	7	7	18	20	148
Victoria Herrera Y.	Coordinación	3	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	19
	Búsqueda y análisis de información	12	12	12	12	12	6	6	6	6			84
	Talleres	3									10	6	19
	Informes					8					6	12	26
	Total HH por mes	18	14	14	14	22	7	7	7	7	18	20	148
Eduardo Tarifeño S.	Coordinación	2									3	3	8
	Búsqueda y análisis de información	2				4							6
	Talleres	2									5	5	12
	Informes					4					4	4	12
	Total HH por mes	6				8					12	12	38
Cristian Canales A.	Coordinación	2									2		4
	Búsqueda y análisis de información						5	10	10	10	3		38
	Talleres	3									5	5	15
	Informes											5	5
	Total HH por mes	5					5	10	10	10	10	10	60
Federico Winkler M.	Coordinación	2									3	3	8
	Búsqueda y análisis de información	2				4							6
	Talleres	2									5	5	12
	Informes					4					4	4	12
	Total HH por mes	6				8					12	12	38
Lilian Troncoso	Coordinación	2									2		4
	Búsqueda y análisis de información		4	4				10	10	10			38
	Talleres	2									8	5	15
	Informes											5	5
	Total HH por mes	4	4	4				10	10	10	10	10	62
Técnico NN	Apoyo en todas las actividades		5	5	5	5	5	5	5	5			40
	Total HH por mes		5			40							
Total HH por meses		73	53	53	49	81	40	55	55	55	102	106	722

ANEXO 2. Archivo Excel con base de datos completa (Se adjunta al informe).