

Estado actual de las investigaciones para la modificación genética de organismos acuáticos

Mario P Estrada García

División de Genética de Células de Mamíferos. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.
AP 6162, CP 10600, Ciudad de La Habana, Cuba. E-mail: mpablo@cigb.edu.cu

Biotecnología Aplicada 1999;16(Número especial):E12-E14

Introducción

En las dos últimas décadas del siglo xx, la biología moderna ha incrementado rápidamente sus métodos para la producción de organismos con nuevas características. Estos métodos están vinculados a la ingeniería genética, que consiste en el aislamiento de moléculas de ácido nucleico de un organismo y su posterior introducción en otro, siendo este último portador de esa información genética y capaz, además, de transmitirla a su descendencia.

Las técnicas de ingeniería genética actuales son usadas con diversos objetivos, como el mejoramiento de cultivos agrícolas; la potenciación de los peces de cultivo, moluscos y crustáceos, y su productividad; y la producción de microorganismos para la biorremediación, entre otras transformaciones genéticas de organismos que prometen transformaciones importantes en diferentes ramas de la vida del hombre.

Sin embargo, el beneficio potencial que representan los organismos modificados genéticamente (OMG) trae consigo un peligro potencial para la salud del hombre y el medio. Este peligro de los OMG radica en su capacidad para transmitir su genotipo a las futuras generaciones y, con ello, la cualidad nueva que esto conlleva, aportando la incertidumbre de desconocer si, a corto, mediano o largo plazo, esto puede dar lugar a un efecto sobre la salud o estado de los OMG y su comportamiento en el medio.

Corresponde entonces a los hombres de ciencia aplicar estas transformaciones como soluciones irremediables para la subsistencia del hombre en el futuro, como es el caso de la satisfacción de la alimentación de la creciente población mundial y asegurar, certeramente, que estos cambios no se conviertan en algo dañino para sí mismos.

Transformaciones genéticas en organismos acuáticos

La biotecnología marina puede ser entendida como un grupo de mecanismos o técnicas aplicadas a la dirección de sistemas acuáticos vivos para el beneficio del hombre. El objetivo primordial de la biotecnología marina, entonces, es suministrar biomasa para la alimentación de la población mundial. Teniendo en cuenta que no es posible aumentar esa biomasa a partir de la pesca y captura en los mares y océanos, pues ésta se encuentra al tope de sus posibilidades, se vuelve indispensable la aplicación de técnicas biotecnológicas de avanzada para lograr la necesaria producción de alimentos.

La acuicultura y maricultura desempeñan, en estos momentos, un papel determinante en la producción de proteína animal para la alimentación del hombre. Sobre todo, teniendo en cuenta que los organismos

acuáticos, de forma general, presentan un mejor factor de conversión que otros organismos utilizados con estos fines, por lo que resultan sistemas más económicos e interesantes que, potenciados con los avances en la modificación genética de los animales, incrementan varias veces sus posibilidades y se vuelven necesarios para la subsistencia de la humanidad.

Desde que, en 1981, Brinster y colaboradores [1] publicaron por primera vez la evidencia de la expresión de un gen foráneo en un ratón, surgió el término de animales transgénicos. Decenas de grupos en el mundo han establecido esta tecnología y desarrollado animales transgénicos con diversos propósitos. En el caso de los organismos acuáticos, se reportó, en 1985, por Zhu y colaboradores [2], el primer experimento de transgénesis en peces.

Ya en 1991, se reportaron más de 15 especies de peces y moluscos transformados con genes reporteros, y los primeros ensayos con genes de la hormona de crecimiento [3].

En la actualidad, decenas de especies de peces marinos y de agua dulce han sido transformadas genéticamente (Tabla 1) de las cuales, la manipulación del crecimiento ha sido el blanco fundamental, sobre todo en las especies de alto valor comercial, como la tilapia (*Oreochromis spp.*) [4, 5], el salmón (*Salmo salar*) [6, 7], las ostras (*Crassostrea gigas*) [8] y la dorada (*Sparus aurata*) [9].

Los objetivos fundamentales que se han buscado en la modificación genética de organismos acuáticos son:

- manipulación del crecimiento
- resistencia a enfermedades
- tolerancia a condiciones adversas de crecimiento
- modelos animales para enfermedades y estudios del desarrollo.

Tabla 1. Experimentos de transferencia génica en peces.

Peces transgénicos	Número de construcciones genéticas utilizadas para la generación de transgénicos
Medaka ^a	17
Pez cebra ^a	14
Carpa	14
Tilapia	12
Pez gato	9
Trucha	7
Salmón	6
Carpa dorada	5
Lucio	2
Locha	2
Brema de mar	2
Brema roja de mar	1

^aSu gran utilización se debe a que son las dos especies de peces usadas como modelos para estudios del desarrollo y otros modelos animales.

1. Brinster RL, Chen HY, Trumbauer ME, Payton BV. Secretion of proteins by the fertilized mouse ovum. *Exp Cell Res* 1981;134:291-6.

2. Zhu Z, Li G, He L, Chen S. Novel gene transfer into the fertilized eggs of goldfish (*Carassius auratus* L. 1758). *Angew Ichthyol* 1985;1:31-4.

3. De la Fuente J, Hernández O, Guillén I, Castro FO, Aguilar A, Herrera L, Uliver C, Pérez A. Transgénesis en peces y su aplicación en biotecnología. *Biotecnología Aplicada* 1991;8:123-39.

4. Martínez R, Estrada MP, Berlanga J, Guillén I, Hernández O, Cabrera E, et al. Growth enhancement in transgenic tilapia by ectopic expression of tilapia growth hormone. *J Mol Mar Biol Biotechnol* 1996;5(1):62-70.

5. Rahman A, Maclean N. Production of lines of growth enhanced transgenic tilapia (*Oreochromis niloticus*) expressing a novel piscine growth hormone gene. In Le Gal Y, Halvorson H, editors. *New Developments in Marine Biotechnology*. New York: Plenum Press 1998;19-28.

6. Fletcher GL, Shears MA, King MJ, Davies PL, Hew CL. Evidence for antifreeze protein gene transfer in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can J Fish Aquat Sci* 1988;45:352-7.

7. Davies PL, Fletcher GL, Hew CL. Fish antifreeze protein genes and their use in transgenic studies. In: N. MacLean (Ed.), *Oxford Surveys on Eukaryotic Genes*, Vol. 6. Oxford University Press, 1989; p.85-109.

8. Cadoret JP, Gendreau S. Microinjection of bivalve eggs: application in genetics. *Mol Mar Biol Biotech* 1997;6:72-80.

9. Álvarez MC, Bejar J, Hong Y. Toward obtaining ES cells in the marine fish species *Sparus aurata*: Multipassage maintenance, characterization and transfection. *Gen Anal Bio Eng* (In press).

Además de los objetivos antes mencionados, no se descarta la posibilidad del uso de estos organismos como biofactorías para la producción de proteínas de interés terapéutico o con otros usos.

Los resultados obtenidos en la manipulación del crecimiento en peces y moluscos, han demostrado que es posible acelerar el crecimiento de éstos, con la inserción, de forma adecuada, de copias adicionales del gen de la hormona de crecimiento en el genoma. La aceleración del crecimiento se logra, cuando este transgén se expresa a bajos niveles de forma constitutiva, con una mejor y más constante utilización de la hormona de crecimiento y del mecanismo que ella desencadena [10]. Es por esta razón que varios grupos en el mundo han ido a la obtención de animales transgénicos que portan el gen de la hormona de crecimiento, y han establecido bancos de reproductores homocigóticos, que representan el primer paso para la producción de OMG para el consumo humano.

La resistencia a enfermedades a través de OMG, constituye el segundo blanco de importancia en los organismos acuáticos, aunque, en este sentido, los estudios se encuentran todavía en fase de estudio básico. Esta prioridad se debe a que el cultivo de estos organismos para aumentar su productividad se ha orientado hacia los cultivos intensivos y superintensivos, con la incorporación de alta tecnología y alta densidad de animales por área de cultivo. Esta última característica hace que, en caso de afectaciones por patógenos, las pérdidas aumenten mucho y acentúen la importancia del estudio de vías para la resistencia a las enfermedades más comunes, entre las que la modificación genética es uno de los posibles caminos para solucionar el problema.

La clonación de genes que confieren determinada resistencia para el crecimiento en condiciones adversas, ha sido otro de los aspectos incorporados a los OMG en organismos acuáticos. El gen que codifica la proteína anticongelante (AFP), aislada de peces que crecen a muy bajas temperaturas, es el resultado más novedoso en este campo. Este gen fue insertado por transgénesis en el genoma de una especie de salmón y le confirió la posibilidad de crecer de forma normal a temperaturas mucho más bajas que las del hábitat natural en que se desarrollan estos peces. En este aspecto de resistencia a condiciones adversas de crecimiento y otras características, varios grupos trabajan en aspectos relacionados con la temperatura, el pH, la salinidad, los colores de la piel y los músculos, el sabor, etc.

Los peces transgénicos, como modelo para el estudio del desarrollo en vertebrados, constituyen un modelo muy bueno, rápido de obtener y son disímiles las aplicaciones en este campo y en el de modelo de enfermedades. El pez cebrá es el más utilizado en este sentido.

Por los resultados publicados hasta el presente, la utilización de organismos acuáticos modificados genéticamente para la manipulación del crecimiento, será el primer resultado de los OMG que se aplicará en el consumo humano.

Dudas más frecuentes acerca de los organismos acuáticos modificados genéticamente con mayor velocidad de crecimiento

¿Los peces modificados genéticamente requieren más comida que los peces naturales para alcanzar la talla comercial?

Los peces modificados genéticamente no requieren más alimento que los naturales, debido a que poseen una conversión muy alta del alimento. Además, al alcanzar la talla comercial en menor tiempo, por poseer una mayor velocidad de crecimiento, necesitan mucha menos cantidad de comida desde que nacen hasta que son capturados.

¿Poseen estos animales mayores niveles de hormona de crecimiento circulante que los peces naturales?

Los peces modificados genéticamente para crecimiento acelerado no poseen niveles de hormona de crecimiento circulante mayores que los peces naturales. Su rápido crecimiento se atribuye a la producción continua de hormona a niveles fisiológicos y a una mayor eficiencia de conversión del alimento.

Aspectos de bioseguridad y el principio de la precaución

El objetivo de la bioseguridad es discernir, al máximo posible, el daño potencial al hombre y al medio que puedan producir los OMG y sus productos. La bioseguridad, en este caso, tiene un objetivo que no es plenamente alcanzable, pero debe ayudar a minimizar, al máximo posible, el daño potencial que pudiera producir un OMG.

La bioseguridad establece entonces el principio de la precaución, que es:

“... la falta de la certeza científica total no debe ser usada como una razón para posponer medidas para eliminar o minimizar un peligro” (Convención de la Biodiversidad Biológica; 1994).

Asumiendo este principio, se llega a la conclusión de que los productores de OMG deben demostrar que un escape de éstos al medio no afectará la salud humana ni la seguridad del medio.

Evaluación de la bioseguridad de la línea de tilapias transgénicas IG-91/03F70

La línea de tilapias transgénicas IG-91/03F70 fue obtenida en el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de La Habana, y presenta un fenotipo de crecimiento acelerado a partir de un genotipo con una copia adicional del gen que codifica la hormona de crecimiento de tilapia (tiGH) [4]. Esta línea ha sido estudiada y caracterizada en comparación con las tilapias salvajes para establecer la seguridad, o no, de su utilización como línea de tilapias para la producción en el sistema de acuicultura en Cuba.

La caracterización fenotípica de la línea IG-91/03F70 (Tabla 2), muestra varias características favorables sobre las tilapias salvajes, y demuestra las ventajas que la recomiendan para su uso en la acuicultura, como una mayor velocidad de crecimiento, menor dominancia por el alimento, menor apetito, igual digestibilidad, tres veces mejor factor de conversión del alimento e igual resistencia a enfermedades.

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, se analizó la seguridad para la salud humana del consumo de la tilapia transgénica, tanto *in vitro* como *in vivo*, en ensayos de consumo en voluntarios sanos, y basados en el principio de sustancia equivalente, en el caso en que se usó un modelo animal (Tabla 3).

Los resultados obtenidos en los experimentos mostrados en la Tabla 3, demuestran que la tiGH no tiene

10. De la Fuente J, Martínez R, Guillén I, Estrada MP, Leonart R. Gene transfer in tilapia for accelerated growth: from the laboratory to the consumer. In: de la Fuente J and Castro FO, editors. Gene Transfer in Aquatic Organisms. Berlin: Springer-Verlag and Georgetown: Landes Bioscience, 1998; p.83-106.

11. Guillén I, Berlanga J, Valenzuela C, Morales A, Toledo J, Estrada MP, Puentes P, Hayes O, de la Fuente J. Safety evaluation of transgenic tilapia with accelerated growth. J Mar Biotechnol 1999;1(2):2-14.

12. Guillén I, Morales A, Estrada MP, de la Fuente J. In: MacKinlay D, Howard K, and Cech Jr. J, editors. Fish Performance Studies (International Congress on the Biology of the Fish, Towson University, Baltimore) July 1998;1-7.

13. Cabezas L, Herrera F, Martínez R, Arenal A, Estrada MP, de la Fuente J. Growth performance of transgenic hybrid tilapia (*Oreochromis* spp.) under intensive culture conditions. J. In: Fitzsimmons K, editor. Tilapia aquaculture. NRAES-106 1997;1:109-1.

14. González-Sasón G. Ecología de las lagunas costeras de la región suboriental de Cuba. Rev Inv Mar 1984;127-69.

efecto en los parámetros evaluados en mamíferos, y cubren un amplio rango de la acción reportada de la hormona de crecimiento, garantizando por ello, en gran medida, la seguridad y aceptabilidad para la salud humana en el consumo de tilapias transgénicas.

Por último, siguiendo el manual para la estimación de los efectos sobre la salud humana y la ecología de los OMG, editado en 1998 por el grupo de trabajo científico en bioseguridad del Instituto de Edmonds, Washington, Estados Unidos, quedaría estimar el efecto sobre el ecosistema relacionado con la posible introgresión del transgén, impacto de interferencia reproductiva, y sobre la estructura y procesos del ecosistema.

Los resultados mostrados anteriormente en la Tabla 2 indican que, en caso de escape, la tilapia transgénica presenta desventajas con respecto a la tilapia salvaje [12]. Por otra parte, si se produjera la introgresión del transgén en el medio, éste tendería a diluirse en la población salvaje y a desaparecer, teniendo en cuenta que al cultivo siempre iría la tilapia transgénica heterocigótica.

Estudios preliminares de desove de las hembras transgénicas, han mostrado que no existen diferencias entre el desove de éstas y el de las hembras salvajes (datos no mostrados).

Por último, es importante destacar que la tilapia fue introducida en Cuba en la década de 1960 y, por esta causa, no existe ninguna especie autóctona en peligro [14].

Los resultados presentados aquí muestran un número importante de estudios y experimentos que avalan la utilización de la línea de tilapias transgénicas para la acuicultura nacional. El monitoreo de su utilización, así como medidas de control y su empleo en sistemas intensivos y semiintensivos en una primera etapa, podrían ser los primeros pasos que se deben seguir para el uso de estos animales de gran valor genético, que resumen

Tabla 2. Caracterización fenotípica de la línea de tilapias IG-91/03F70.

Parámetro evaluado	Línea de tilapia ^c		Referencia
	Transgénica	Salvaje	
Dominancia (media ± DE, número de pellets comidos)	0,8 ± 1,1	18,2 ± 0,8 (P = 1,1 × 10 ⁻¹²)	11
Apetito (motivación por el alimento) (media ± DE, número de pellets comidos)	18,6 ± 4,3	43,9 ± 7,6 (P = 7,7 × 10 ⁻⁷)	11
Digestibilidad (%)	90	91	10
Factor de conversión del alimento (media ± EE)	2,8 ± 0,6 (P < 0,03)	9,7 ± 9,4	12
Resistencia a enfermedades (mortalidad en %) ^a	60 (A.h), 40 (V.c) 20 (ECT)	40 (A.h), 50 (V.c) 40 (ECT)	Prieto y cols., no publicado
Crecimiento promedio en cultivo superintensivo (g/día) ^b	1,5	0,81 (O. aureus) 0,64 (roja híbrida)	13

^aSe evaluó la resistencia a enfermedades de los transgénicos y los salvajes. Diez animales por grupo fueron retados con *Aeromonas hydrophila* (A.h), *Vibrio cholerae* (V.c) o *Corynebacterium* (ECT) y la mortalidad fue monitoreada durante 12 días.

^bTilapias transgénicas heterocigóticas y tilapias salvajes fueron cultivadas en mono y policultivo con tilapia roja híbrida y pez gato.

^cEl análisis estadístico fue realizado empleando un ensayo de ANOVA o la prueba t de Student. Sólo las diferencias significativas son empleadas.

DE: desviación estándar; EE: error estándar.

Tabla 3. Ensayos de seguridad para el consumo de tilapias transgénicas.

Evaluación	Resultados	Referencia
Inyección intravenosa de tIGH a monos macacos	No se apreciaron efectos fisiológicos ni clínicos, ni en los parámetros bioquímicos. Tampoco hubo diferencias en los niveles del ARN del crecimiento 1 tipo insulina en hígado	11
In vitro sulfatación (³⁵ S-sulfate) de explantes de cartilago de conejo promovido por tIGH	No hubo sulfatación de cartilago	11
Ingestión de tilapia transgénica y salvaje a doble ciegos por voluntarios sanos	No hubo diferencias en ningún parámetro estudiado entre los grupos	11

un fenotipo muy deseado para la acuicultura, y cuya obtención de forma convencional podría haber demorado decenas de años y que, utilizada con el conocimiento necesario, puede representar un aumento importante de la producción acuícola.