
L'ENGINYERIA GENÒMICA, L'ÚLTIMA REVOLUCIÓ EN LA MILLORA GENÈTICA DE LES PLANTES CULTIVADES

Josep M. Casacuberta¹ i Fabien Nogué²

Panel d'OGM de l'Autoritat Europea de Seguretat Alimentària (EFSA)*

1. Centre de Recerca en Genòmica Agronòmica, CRAG (CSIC-IRTA-UAB-UB)

2. INRA, UMR 1318, AgroParisTech, Institut Jean-Pierre Bourin (IJPB)

REBUT: 4 de maig de 2016 - ACCEPTAT: 22 de maig de 2016

RESUM

La millora genètica de les plantes cultivades ha permès a les societats humanes obtenir suficient quantitat d'aliments de qualitat al llarg de la història. Aquest procés, que comença al neolític, s'ha anat tecnificant i fent més eficient a mesura que la ciència avançava. La mutagènesi a mitjan segle xx i la transgènia al final dels anys noranta del mateix segle, entre altres tècniques, han permès fer un salt endavant en la millora genètica. Recentment s'han posat a punt tècniques de mutagènesi dirigida amb nucleases específiques que poden revolucionar la millora genètica. En particular, la mutagènesi amb el sistema CRISPR/Cas9 està permetent ja obtenir noves variants al·lèliques amb una eficiència i precisió sense precedents. Malgrat l'interès evident d'aquestes tècniques, el seu èxit dependrà, en gran manera, de la regulació que s'apliqui a les plantes obtingudes, i en particular de si la legislació europea les considera transgèniques o no. En aquest article analitzem l'interès d'aquestes tècniques a la llum de la història de la millora genètica de les plantes i en discutim la possible regulació.

PARAULES CLAU: millora genètica, plantes cultivades, CRISPR/Cas9, regulació.

* Les opinions dels autors les expressen a títol personal i no representen en cap sentit les posicions de la institució a la qual pertanyen.

Correspondència: Josep M. Casacuberta. CRAG (CSIC-IRTA-UAB-UB), Campus UAB, Cerdanyola del Vallès, 08193 Barcelona. Tel.: 935 636 603. A/e: josep.casacuberta@cragenomica.es.

LA INGENIERÍA GENÓMICA, LA ÚLTIMA REVOLUCIÓN EN LA MEJORA DE LAS PLANTAS CULTIVADAS

RESUMEN

La mejora genética de las plantas cultivadas ha permitido a las sociedades humanas obtener suficientes alimentos de calidad a lo largo de la historia. Este proceso, que empieza en el Neolítico, ha ido tecnificándose y haciéndose más eficiente en paralelo al avance científico. La mutagénesis desde mediados del siglo xx y la transgenia desde finales de los años noventa del mismo siglo, entre otras técnicas, permitieron dar un salto cualitativo en la mejora genética. Recientemente se han puesto a punto técnicas de mutagénesis dirigida con nucleasas específicas que pueden revolucionar la mejora genética. En particular, la mutagénesis usando el sistema CRISPR/Cas9 está permitiendo ya obtener nuevas variantes alélicas con una eficiencia y precisión sin precedentes. Aunque el interés en estas técnicas es evidente, su éxito dependerá en gran medida de la regulación que se aplique a los productos obtenidos de estas plantas, y en particular de si la legislación europea las considera transgénicas o no. En este artículo analizamos el interés de estas técnicas a la luz de la historia de la mejora genética de las plantas y discutimos su posible regulación.

PALABRAS CLAVE: mejora genética, plantas cultivadas, CRISPR/Cas9, regulación.

GENOMIC ENGINEERING, THE LATEST REVOLUTION IN PLANT BREEDING

ABSTRACT

Plant breeding has allowed human societies to secure the production of food of good quality throughout history. This process, which started in the Neolithic, has become increasingly technologically based and efficient in step with the advance of scientific knowledge. Mutagenesis, since the mid 20th century, and transgenic plants since the late 1990s, among other techniques, allowed a qualitative leap forward in plant breeding. Recently, new site-directed mutagenesis techniques have been developed which may have a large impact on plant breeding. In particular, CRISPR/Cas9 mutagenesis approaches are already allowing new alleles to be obtained with unprecedented efficiency and precision. In spite of the obvious interest of these techniques, their success in plant breeding will greatly depend on the regulation applied to the plants which are obtained and more specifically on whether or

not these plants will be considered GMOs. In this article we describe the interest of these new techniques and discuss their possible regulation.

KEYWORDS: plant breeding, crops, CRISPR/Cas9, regulation.

1. LA DOMESTICACIÓ DE LES ESPÈCIES CULTIVADES: MUTACIÓ I SELECCIÓ

La diversitat de formes, estructures i estils de vida de les plantes i dels animals amb què compartim la Terra és fruit de la llarga evolució dels seus genomes. Una evolució que ha agafat camins diferents sempre condicionada per un ambient variat i canviant. També, i d'una manera molt particular, en el cas de les plantes que cultivem. Des del neolític fins ara l'ésser humà ha dirigit l'evolució de les plantes cultivades seleccionant-ne de manera continuada certes característiques, modificant l'ambient en què viuen de manera molt intensa. Treure les plantes del seu medi natural, fent-les créixer en un ambient controlat, i començar a seleccionar caràcters diferents dels que són útils per a la vida silvestre va induir a canvis radicals en les seves característiques. Aquests canvis, que es coneixen com la *síndrome de la domesticació*, impliquen diferents caràcters que es van seleccionar de manera repetida durant la domesticació de diferents espècies (Olsen i Wendel, 2013). Aquests caràcters són, entre d'altres, la pèrdua de la dispersió i de la dormància de les llavors i la uniformització de la seva germinació, així com el creixement erecte de les plantes, que permet augmentar la densitat de plantes en un camp. Malgrat que el mateix caràcter s'ha seleccionat de manera repetida, sembla que les mutacions i els gens mutats no sempre han estat els mateixos, cosa que posa de manifest la gran plasticitat dels processos adaptatius (Gaut, 2015). En els darrers deu anys s'han identificat un bon nombre d'allels responsables dels canvis fenotípics seleccionats durant la domesticació de les plantes cultivades. En la majoria dels casos, es tracta de noves variants de gens reguladors de la transcripció gènica o del desenvolupament de les plantes, mentre que és molt menys freqüent que es tracti de mutacions en gens codificants per a proteïnes estructurals (Olsen i Wendel, 2013). Pel que fa al tipus de mutacions, les mutacions de pèrdua de funció són les més comunes. Per exemple, un canvi d'aminoàcid associat a la pèrdua de funció d'un factor de transcripció que regula el creixement és l'origen del creixement erecte de l'arròs cultivat (Jin *et al.*, 2008). Però també hi ha exemples de mutacions que indueixen a canvis en la regulació dels gens o canvis d'aminoàcids que modifiquen la funció de les proteïnes. Així, per exemple, el canvi en l'arquitectura del blat de moro, perdent les branques laterals en benefici de la tija principal, que és clau en la seva domesticació, és el resultat de mutacions en el gen *tb1* que en modifiquen l'expressió. En

aquest cas, no es tracta d'una mutació puntual sinó de la inserció d'un retrotransposó prop del gen (Studer *et al.*, 2011). Els retrotransposons, i en general els elements repetitius mòbils, són responsables d'una part important de la plasticitat gènica de les plantes. De fet, es considera que els elements mòbils i les duplicacions de gens o de tot el genoma, que augmenten les possibilitats de modificació dels gens i que són molt freqüents en l'evolució de les plantes, són els dos mecanismes més importants de generació de variabilitat gènica en les plantes (Casacuberta *et al.*, 2016).

2. ELS ÚLTIMS CENT ANYS: MUTAGÈNESI I TRANSGÈNIA

La millora genètica de les plantes cultivades és un procés continuat que comença fa més de deu mil anys i continua avui dia. Però, per descomptat, s'ha fet de maneres molt diferents des del neolític fins ara. Les tècniques aplicades a la millora genètica han evolucionat paral·lelament al coneixement científic. Així, mentre que durant una bona part de la història es va fer d'una manera empírica i intuïtiva, el redescobriments de les lleis de Mendel i la difusió de les teories de l'evolució de Darwin, entre altres avenços del coneixement, van permetre donar-hi una base científica sòlida i van provocar un salt qualitatiu molt important al principi del segle xx. Els creuaments dirigits, les millores en el cultiu *in vitro*, amb el rescat d'embrions, entre altres tècniques, i sobretot l'obtenció d'híbrids molt més vigorosos, van permetre la creació de les primeres empreses de llavors a mitjan segle xx.

Entendre la importància de les mutacions espontànies, i de la variabilitat gènica, com a base de l'evolució i de la millora genètica d'espècies cultivades, va ser també essencial per a aquest salt qualitatiu. I en el moment en què es va entendre que les radiacions o alguns tractaments químics podien induir a mutacions, es van començar a aplicar per a augmentar-ne la variabilitat en programes de millora. L'ús de mutàgens en programes de millora ha tingut un gran èxit. Durant els darrers setanta anys, la mutagènesi ha permès obtenir més de 3.200 varietats comercials de prop de 200 espècies diferents (FAO/IAEA, 2016). Les mutacions introduïdes per aquestes tècniques són el resultat de la reparació del DNA duta a terme pels mateixos mecanismes cel·lulars que reparen els errors de replicació i el dany de les radiacions que es produeixen de manera natural, i per això no són diferents de les mutacions naturals. La majoria són polimorfismes d'un sol nucleòtid (SNP) o petites insercions/delecions, però també poden ser reorganitzacions cromosòmiques o duplicacions gèniques (Bolon *et al.*, 2014).

La limitació més important de les tècniques de mutagènesi química o per radiació és la natura estocàstica que tenen. Això fa que per a generar mutants en un gen determinat es necessitin programes de mutagènesi molt intensius, amb garbellats de poblacions grans d'individus per a poder detectar-ne un

que porti la mutació. D'altra banda, la majoria de mutacions obtingudes són de pèrdua de funció, i és pràcticament impossible obtenir un al·lel determinat amb, per exemple, una substitució precisa d'un aminoàcid. Les tècniques de TILLING (*targeting induced local lesions in genomes*), amb un garbellat basat en l'anàlisi massiva del DNA, permeten abordar programes de mutagènesi extensius, i obtenir una diversitat de mutants en el mateix gen, però no resolen la dificultat d'obtenir al·lels determinats.

Així mateix, des de l'any 1994, en què es va comercialitzar el primer producte obtingut d'una planta transgènica, només deu anys després que s'aconseguís la primera transferència de gens en plantes al laboratori, la transgènia ha completat les eines que els milloradors de plantes tenen a l'abast. La transgènia permet ampliar la diversitat útil als al·lels presents en qualsevol organisme, atès que el nou gen s'introdueix directament en el nucli de la cèl·lula de la planta receptora. Fins i tot permet introduir gens sintetitzats totalment o parcialment, o bé que continguin noves combinacions de les regions que formen el gen (regions codificants i regions reguladores) o noves combinacions de mutacions naturals. Les grans possibilitats que ofereix la transgènia van fer que, des del primer moment, s'establís tant a Europa com als Estats Units (EUA), i posteriorment a molts altres països, una regulació que pretén minimitzar els riscos associats amb els productes obtinguts d'aquestes plantes. Aquesta legislació, que existeix des del principi dels anys noranta i que té com a nucli una anàlisi rigorosa dels riscos per a la salut humana i animal i el medi ambient feta per organitzacions científiques independents, s'ha anat completant des de llavors fins ara i ha donat lloc a un entramat de directives i reglaments complex i feixuc amb un cost molt alt en temps i diners per a les empreses. Això ha fet que, malgrat que les possibilitats ofertes per la tècnica són moltes, la transgènia només s'hagi aplicat a cultius on la venda de llavors pot donar rendiments importants, i només unes poques empreses grans, les úniques que es poden permetre la inversió, dominen tot el mercat. Aquesta limitació també succeeix pel que fa als caràcters introduïts, que més de vint anys després de les primeres plantes continuen sent essencialment la resistència a plagues i la tolerància a herbicides, mentre que la millora de la qualitat nutritiva o altres modificacions de la composició són encara molt escasses (per a una descripció de les plantes transgèniques comercialitzades o en avaluació vegeu GMO-Compass, 2016, i Parisi *et al.*, 2016). Malgrat això, la superfície conreada amb transgènics al món continua creixent. A Europa, en canvi, només es permet el cultiu d'un sol transgènic, el blat de moro resistent al barrinador de blat de moro derivat del MON 810 de l'empresa Monsanto, i es cultiva sobretot a Catalunya i a l'Aragó. En aquestes zones, en què el barrinador de blat de moro és una plaga important, el percentatge de blat de moro transgènic és considerable. D'altra banda, Europa importa grans quantitats de soja, colza i blat de moro per a alimentació animal i cotó per a la indústria tèxtil que són, en una proporció

molt important, transgènics. De fet, tot i que a Europa només està autoritzat el cultiu del blat de moro MON 810, hi ha molts productes transgènics aprovats per a la importació (vegeu GMO-Compass, 2016, per a més informació).

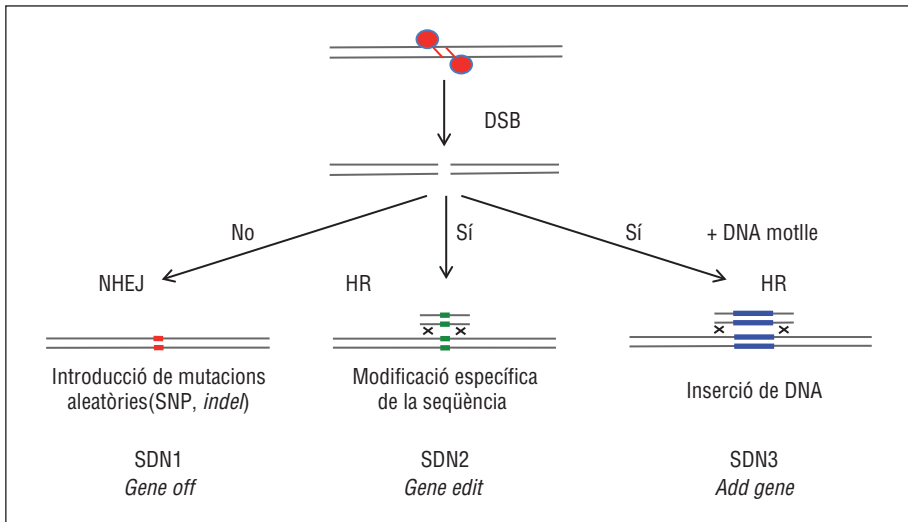
3. LES NOVES TÈCNiques D'EDICIÓ GÈNICA: QUÈ ES POT FER I QUÈ S'HA FET

La recerca en genètica molecular ha seguit molt activa durant els últims vint anys, i ja en fa uns quants que la Comissió Europea i els diferents estats membres de la Unió Europea (UE) discuteixen com s'haurien de regular tota una sèrie de tècniques que es coneixen com a *noves tècniques per a la millora genètica de plantes* o *new plant breeding technologies* (NBT) en anglès. Algunes d'aquestes tècniques no són realment noves, com és el cas dels empelts (el que està en discussió és com s'han de regular les plantes que tenen un portaempelt transgènic), d'altres probablement no s'aplicaran de manera important. Però una d'aquestes tècniques, la mutagènesi dirigida per nucleases específiques (SDN, de l'anglès *site-directed nucleases*), sí que té un interès evident i podria tenir una aplicació immediata i important en la millora genètica de les plantes. Les SDN permeten introduir trencaments de la doble cadena del DNA que, en ser reparats per la maquinària cel·lular, deixen mutacions. En funció de si la reparació es fa en presència d'un DNA similar a la seqüència que cal reparar que pugui ser utilitzat de motlle per a la recombinació homòloga o no, el resultat pot ser la introducció de mutacions específiques al lloc tallat per la SDN o bé la introducció de mutacions aleatòries al mateix lloc. El DNA motlle pot contenir uns quants canvis respecte a la seqüència que es vol mutar, però també pot contenir un DNA llarg (fins i tot un gen sencer), cosa que permet introduir seqüències externes al lloc de tall. Aquestes aplicacions diferents s'han classificat en tres grups per facilitar la discussió de la seva possible regulació: SDN1, introducció de mutacions aleatòries al lloc de tall (*gene off*); SDN2, introducció de canvis específics al lloc de tall (*gene edit*), o bé SDN3, introducció de seqüències llargues al lloc de tall (*add gene*) (figura 1).

Tot i que des de ja fa uns quants anys s'estan utilitzant SDN de diferents tipus (Podevin *et al.*, 2013), ha estat el desenvolupament de les SDN dirigides per RNA, i en particular les CRISPR/Cas9 (de l'anglès *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*, associades a la nucleasa Cas9), el que ha fet possible definitivament una aproximació senzilla i efectiva a la modificació gènica dirigida.¹ El sistema CRISPR/Cas9 és un mecanisme de defensa procariontic contra la infecció de fags (virus que infecten bacteris) o plas-

1. Per saber-ne més sobre la utilització de CRISPR/Cas9, vegeu el número especial de la revista *Nature* del 10 de març del 2016, volum 531, número 7593.

FIGURA 1. Possibles usos de les nucleases específiques per a l'edició gènica



NOTA: Les SDN introdueixen talls a la doble cadena de DNA (o DSB, de l'anglès *double strand breaks*) que són reparats per la maquinària cel·lular essencialment per dos possibles mecanismes: la fusió d'extremes no homòlegs (NHEJ, de l'anglès *non-homologous end joining*), o la recombinació homòloga (HR, de l'anglès *homologous recombination*), en cas que hi hagi una molècula de DNA de seqüència prou semblant que pugui ser utilitzada de motlle per a la reparació. El gràfic mostra els diferents resultats esperats de la reparació i els noms amb què es coneixen els diferents processos que donen lloc a aquests productes.

FONT: Elaboració pròpia.

midis. El sistema es basa en la incorporació al genoma del bacteri de petites seqüències del patògen durant la infecció, les seqüències CRISPR, que poden donar lloc a petits RNA que guien les nucleases Cas contra el DNA invasor quan es produeix una nova infecció. Sintetitzant un RNA guia complementari de la seqüència que es vol modificar, es pot dirigir el tall de la nucleasa Cas de manera específica. La reparació del tall pels mecanismes cel·lulars en presència o no d'un DNA motlle és el que ens permetrà introduir canvis del tipus SDN1, SDN2 o SDN3. El fet que l'especificitat estigui en una molècula de RNA, i no pas en un domini proteic difícil de modificar, és el que fa particularment versàtil la tècnica de CRISPR/Cas9, i explica el seu èxit espectacular, no tan sols en la millora de plantes, sinó també en àmbits tan diferents com ara la teràpia gènica (*Nature*, 2016).

Com es pot veure a la taula 1, a més d'utilitzar-se extensivament en plantes model com *Arabidopsis thaliana* per a objectius de recerca, la tècnica de CRISPR/Cas9 s'està començant a usar de manera generalitzada per a obtenir nous al·lels en plantes d'interès agronòmic. De fet, el 18 d'abril d'aquest any 2016, l'empresa DuPont Pioneer va anunciar la intenció de comercialitzar properament el primer producte obtingut per aquesta tecnologia, el *waxy*,

TAULA I. *Utilitzacions recents del sistema CRISPR/Cas9 en plantes cultivades*

Espècie	Tipus de modificació	Gen modificat	Referències
Arròs (<i>Oryza sativa</i> L.)	Mutació (SDN1)	<i>Os MPK5</i>	Xie i Yang, 2013
	Mutació (SDN1)	<i>OsCAO1, OsLAZY1</i>	Miao <i>et al.</i> , 2013
	Mutació (SDN1)	Família gènica <i>OsCDK</i>	Endo <i>et al.</i> , 2015
	Mutació (SDN1)	<i>OsSWEET11/14</i>	Jiang <i>et al.</i> , 2013
	Mutació (SDN1)	<i>OsPDS, OsBADH2, Os02g23823, OsMPK2</i>	Shan <i>et al.</i> , 2013
	Mutació (SDN1)	<i>OsROC5, OsSPP, OsYSA</i>	Feng <i>et al.</i> , 2013
	Mutació (SDN1)	<i>OsSWEET11/13/1a/1b</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2014
	Eliminació fragment DNA (SDN1)	Clústers de gens diterpenoides labdano relacionats <i>Chr 2, 4, 6</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2014
	Substitució gènica (SDN2)	<i>PDS</i>	Shan <i>et al.</i> , 2013
	Mutació (SDN1)	<i>ZmIPK</i>	Liang <i>et al.</i> , 2014
	Mutació (SDN1)	<i>ZmHKT1</i>	Xing <i>et al.</i> , 2014
Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> L.)	Mutació (SDN1)	Transgèn (<i>DsRED2</i>)	Jiang <i>et al.</i> , 2013
Blat (<i>Triticum aestivum</i> L.)	Mutació (SDN1)	<i>TaMLO</i>	Shan <i>et al.</i> , 2013
Taronja dolça (<i>Citrus sinensis</i> L.)	Mutació (SDN1)	<i>CsPDS</i>	Jia i Nian, 2014

FONT: Elaboració pròpia.

un blat de moro ric en amilopectina molt útil per a diverses aplicacions, i que s'afegirà a d'altres varietats de característiques semblants obtingudes per mutagènesi clàssica.²

4. ELS AVANTATGES DE LES SDN I LES INCERTESES DE LA SEVA REGULACIÓ

Les tècniques d'edició genòmica basades en CRISPR/Cas9 tenen un gran potencial en la millora genètica de plantes perquè permeten de superar algunes de les limitacions que tenen altres tècniques disponibles. Com hem

2. <http://www.pioneer.com/home/site/about/news-media/news-releases/template.CONTENT/guid.1DB8FB71-1117-9A56-E0B6-3EA6F85AAE92>

explicat, les tècniques de mutagènesi química o per radiacions utilitzades fins ara introdueixen mutacions de manera aleatòria en els genomes, cosa que fa molt difícil obtenir mutacions en un gen donat i fa quasi impossible obtenir una mutació concreta, per exemple, un canvi d'aminoàcid determinat. Obtenir diverses mutacions al mateix gen o a diversos gens alhora és virtualment impossible. En canvi, la tècnica de CRISPR/Cas9 permet introduir diverses mutacions de manera específica en un gen o més i, en cas que es faciliti un DNA motlle amb els canvis desitjats, permet d'introduir-hi canvis específics com ara substitucions que es tradueixen en canvis d'aminoàcids. Aquesta tècnica permet també d'eliminar específicament trossos de DNA, com ara, per exemple, gens codificants per a toxines o bé fragments de DNA repetitius potencialment mutàgens, com és el cas dels virus endògens *banana streak viruses* (eBSV) del bananer (Chabannes *et al.*, 2013). Així doncs, les tècniques de CRISPR/Cas9 presenten l'avantatge d'introduir mutacions específiques, i no pas aleatòries com les tècniques clàssiques de mutagènesi, cosa que permet alhora ampliar el ventall de possibilitats pel que fa al tipus de canvis introduïts.

D'altra banda, les tècniques de transgènia utilitzades fins ara no permetien dirigir la inserció del transgèn a un lloc específic del genoma. Això feia que fos necessari analitzar els efectes negatius de la possible interrupció de gens endògens de la planta. Les tècniques basades en CRISPR/Cas9 permeten ara dirigir la inserció del transgèn a un lloc determinat del genoma, escollit prèviament perquè no conté gens la interrupció dels quals pugui comportar un problema per a la planta o el consumidor. Per tot això, les tècniques basades en CRISPR/Cas9 també tenen un gran potencial (encara no s'ha aplicat a plantes cultivades) per a fer més específica la transgènia.

De tota manera, hi ha altres factors, a banda del seu potencial indiscutible, que poden condicionar l'aplicació d'aquestes tècniques per al desenvolupament de noves varietats comercials. Com hem explicat, les noves eines biotecnològiques, i en particular la transgènia, estan sotmeses a una regulació que a Europa és particularment feixuga i que obliga a invertir quantitats importants de diners i de temps en les anàlisis necessàries per a poder sol·licitar l'aprovació. Aprovació que, d'altra banda, és molt incerta. De fet, tot i que l'Autoritat Europea de Seguretat Alimentària (EFSA), que és la responsable de les anàlisis científiques de risc, ha emès desenes d'opinions favorables al cultiu i a la importació de plantes transgèniques, a Europa es continua cultivant només el MON 810 aprovat l'any 1998. Si aquestes noves tècniques se sotmetessin a la mateixa regulació, la seva aplicació acabaria sent molt restringida i es limitaria a grans conreus desenvolupats per les grans companyies de llavors, com ha passat amb les plantes transgèniques. De fet, el debat de la regulació de les plantes obtingudes per aquestes tècniques continua obert. Als EUA les autoritats competents han emès informes que diuen que, atès que les mutacions introduïdes per CRISPR/Cas9 no són de natura diferent que les in-

troduïdes per mutagènesi aleatòria, consideren que no han d'estar sotmeses a una regulació particular. Aquesta és també l'opinió de diverses autoritats competents d'alguns dels estats membres de la UE, com ara la Direcció Nacional d'Agricultura sueca, l'Oficina federal alemanya per a la Protecció del Consumidor i la Seguretat Alimentària (BVL) o la Comissió holandesa sobre la Modificació Genètica (COGEM), així com la de bona part de la comunitat científica europea (European Academies Science Advisory Council, 2013 i 2015; Podevin *et al.*, 2013; Hartung i Schiemann, 2014).

Però la Comissió Europea, que és la que té la competència a Europa per a regular la comercialització dels productes obtinguts de plantes transgèniques, encara no ha fet pública la seva posició sobre aquesta qüestió. I això fa que moltes empreses de llavors, sobretot les petites o les que es dediquen a productes que no són de gran conreu, continuïn expectants i no es decideixin a apostar decididament per unes tècniques que els haurien de permetre obtenir en el futur varietats més adaptades a les necessitats dels pagesos i els consumidors i més competitives en els mercats internacionals.

5. MILLORA GENÈTICA DE PLANTES CULTIVADES I DESENVOLUPAMENT DE NOVES TÈCNiques D'EDICIÓ GÈNICA EN PLANTES A CATALUNYA

Catalunya ha estat sempre molt activa en la millora genètica de les plantes i hi ha un bon grapat de laboratoris públics i d'empreses de llavors que treballen tant en el desenvolupament de tècniques per a ajudar a millorar-les, com en l'obtenció de varietats noves. Pel que fa a l'obtenció de varietats de plantes cultivades, l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) té diversos grups treballant-hi: arbres fruiters (Fruitcentre, Lleida), genètica d'arbres mediterranis (Mas de Bover a Reus), arròs (estació experimental de l'Ebre) o cereals (IRTA / Universitat de Lleida). D'altra banda, tant a la Universitat de Lleida com a la Universitat Politècnica de Catalunya (Castelldefels) hi ha grups que treballen en el desenvolupament d'eines noves. En particular, a la Universitat de Lleida es treballa de manera molt intensa en el desenvolupament i la utilització de plantes transgèniques. Així mateix, empreses com Semillas Fitó tenen una llarga experiència en el desenvolupament de noves varietats tant hortícoles com de cereals i treballen de manera intensa en col·laboració amb l'IRTA i el Centre de Recerca en Agrigenòmica (CRAG, CSIC-IRTA-UAB-UB) en el desenvolupament de noves tècniques moleculars per a ajudar a millorar les plantes cultivades.

Pel que fa a la utilització de les noves tècniques d'edició genòmica, com ara les tècniques de CRISPR/Cas9, tot i que l'interès és general, la seva utilització es limita encara als laboratoris de recerca com ara els del CRAG i els de la Universitat de Lleida.

6. CONCLUSIONS

Les noves tècniques d'edició genètica basades en nucleases específiques, com ara el sistema CRISPR/Cas9, obren la possibilitat de superar algunes limitacions de la millora genètica de les plantes. Per una banda, la possibilitat d'introduir mutacions definides en posicions específiques del genoma permet superar les limitacions de la mutagènesi aleatòria utilitzada des dels anys cinquanta del segle passat; per l'altra, la possibilitat d'introduir seqüències en posicions específiques del genoma millora la precisió i la predictibilitat de les tècniques de transgènia utilitzades fins ara. És per això que aquestes tècniques tenen un potencial gran i han despertat molta expectació entre els milloradors. De tota manera, el seu impacte real en la millora genètica de les plantes dependrà, en gran manera, de com es reguli legalment la utilització i la comercialització dels productes que se'n derivin. El cost de les anàlisis necessàries i el temps que requereix l'aprovació dels productes de plantes regulats com a transgènics fa que només les grans empreses de llavors es puguin plantejar desenvolupar aquests productes i que ho facin només per a grans cultius. Si aquestes noves tècniques es regulen com els transgènics, la seva aplicació per al desenvolupament de productes comercials estarà severament limitada. Si, al contrari, es consideren una nova forma de mutagènesi, que està exclosa de la regulació d'organismes modificats genèticament, podran tenir una aplicació molt més àmplia. Aquesta és, doncs, una decisió important que s'hauria de prendre tenint en compte l'anàlisi científica dels riscos possibles d'aquestes tècniques i les possibilitats reals per a la millora genètica de les plantes cultivades.

BIBLIOGRAFIA

- BOLON, Y.-T.; STEC, A. O.; MICHNO, J.-M.; ROESSLER, J.; BHASKAR, P. B.; RIES, L.; DOBBELS, A. A.; CAMPBELL, B. W.; YOUNG, N. P.; ANDERSON, J. E.; GRANT, D. M.; ORF, J. H.; NAEVE, S. L.; MUEHLBAUER, G. J.; VANCE, C. P.; STUPAR, R. M. (2014). «Genome resilience and prevalence of segmental duplications following fast neutron irradiation of soybean». *Genetics*, núm. 198, p. 967-981.
- CASACUBERTA, J. M.; JACKSON, S.; PANAUD, O.; PURUGGANAN, M.; WENDEL, J. (2016). «Evolution of plant phenotypes, from genomes to traits». *G3 Genes | Genomes | Genetics*, núm. 6, p. 775-778.
- CHABANNES, M.; BAURENS, F.-C.; DUROY, P.-O.; BOCS, S.; VERNEREY, M.-S.; RODIER-GOUD, M.; BARBE, V.; GAYRAL, P.; ISKRA-CARUANA, M.-L. (2013). «Three infectious viral species lying in wait in the banana genome». *J. Virol.*, núm. 87, p. 8624-8637.
- DUPONT PIONEER (2016). *DuPont Pioneer announces intentions to commercialize first CRISPR-Cas product* [en línia]. <<http://www.pioneer.com/>>

- home/site/about/news-media/news-releases/template.CONTENT/guid.1DB8FB71-1117-9A56-E0B6-3EA6F85AAE92> [Consulta: 29 abril 2016].
- ENDO, M.; MIKAMI, M.; TOKI, S. (2015). «Multigene knockout utilizing off-target mutations of the CRISPR/Cas9 system in rice». *Plant Cell Physiol.*, núm. 56, p. 41-47.
- EUROPEAN ACADEMIES SCIENCE ADVISORY COUNCIL (2013). «Planting the future: opportunities and challenges for using crop genetic improvement technologies for sustainable agriculture». *Policy Rep.*, núm. 21.
- (2015). «New Breeding Techniques».
- FAO/IAEA (2016). *Mutant variety database* [en línia]. <<https://mvd.iaea.org>> [Consulta: 24 abril 2016].
- FENG, Z.; ZHANG, B.; DING, W.; LIU, X.; YANG, D.-L.; WEI, P.; CAO, F.; ZHU, S.; ZHANG, F.; MAO, Y.; ZHU, J.-K. (2013). «Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system». *Cell Res.*, núm. 23, p. 1229-1232.
- GAUT, B. S. (2015). «Evolution is an experiment: assessing parallelism in crop domestication and experimental evolution». *Mol. Biol. Evol.*, núm. 32, p. 1661-1671.
- GMO-COMPASS (2016). *GMO Database* [en línia]. <<http://www.gmo-compass.org/eng/gmo/db/>> [Consulta: 2 maig 2016].
- HARTUNG, F.; SCHIEMANN, J. (2014). «Precise plant breeding using new genome editing techniques: Opportunities, safety and regulation in the EU». *Plant J.*, núm. 78, p. 742-752.
- JIA, H.; NIAN, W. (2014). «Targeted genome editing of sweet orange using Cas9/sgRNA». *PLoS One*, núm. 9.
- JIANG, W.; ZHOU, H.; BI, H.; FROMM, M.; YANG, B.; WEEKS, D. P. (2013). «Demonstration of CRISPR/Cas9/sgRNA-mediated targeted gene modification in Arabidopsis, tobacco, sorghum and rice». *Nucleic Acids Res.*, núm. 41, e188.
- JIN, J.; HUANG, W.; GAO, J.-P.; YANG, J.; SHI, M.; ZHU, M.-Z.; LUO, D.; LIN, H.-X. (2008). «Genetic control of rice plant architecture under domestication». *Nat. Genet.*, núm. 40, p. 1365-1369.
- LIANG, Z.; ZHANG, K.; CHEN, K.; GAO, C. (2014). «Targeted mutagenesis in Zea mays using TALENs and the CRISPR/Cas system». *J. Genet. Genomics*, núm. 41, p. 63-68.
- MIAO, J.; GUO, D.; ZHANG, J.; HUANG, Q.; QIN, G.; ZHANG, X.; WAN, J.; GU, H.; QU, L.-J. (2013). «Targeted mutagenesis in rice using CRISPR-Cas system». *Cell Res.*, núm. 23, p. 1233-1236.
- NATURE (2016). «CRISPR everywhere», volum 531, núm. 7593, p. 139-268. Londres: Nature Publishing Group. També disponible en línia a: <<http://www.nature.com/nature/journal/v531/n7593/>> [Consulta: 29 abril 2016].
- OLSEN, K. M.; WENDEL, J. F. (2013). «A bountiful harvest: genomic insights into crop domestication phenotypes». *Annu. Rev. Plant Biol.*, núm. 64, p. 47-70.

L'enginyeria genòmica, l'última revolució en la millora genètica

- PARISI, C.; TILLIE, P.; RODRIGUEZ-CEREZO, E. (2016). «The global pipeline of GM crops out to 2020». *Nat. Biotech.*, núm. 34, p. 31-36.
- PODEVIN, N.; DAVIES, H. V.; HARTUNG, F.; NOGUÉ, F.; CASACUBERTA, J. M. (2013). «Site-directed nucleases: a paradigm shift in predictable, knowledge-based plant breeding». *Trends Biotechnol.*, núm. 31, p. 375-383.
- SHAN, Q.; WANG, Y.; LI, J.; ZHANG, Y.; CHEN, K.; LIANG, Z.; ZHANG, K.; LIU, J.; XI, J. J.; QIU, J.-L.; GAO, C. (2013). «Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system». *Nat. Biotech.*, núm. 31, p. 686-688.
- STUDER, A.; ZHAO, Q.; ROSS-IBARRA, J.; DOEBLEY, J. (2011). «Identification of a functional transposon insertion in the maize domestication gene *tb1*». *Nat. Genet.*, núm. 43, p. 1160-1163.
- XIE, K.; YANG, Y. (2013). «RNA-Guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system». *Mol. Plant*, núm. 6, p. 1975-1983.
- XING, H.-L.; DONG, L.; WANG, Z.-P.; ZHANG, H.-Y.; HAN, C.-Y.; LIU, B.; WANG, X.-C.; CHEN, Q.-J. (2014). «A CRISPR/Cas9 toolkit for multiplex genome editing in plants». *BMC Plant Biol.*, núm. 14, p. 1-12.
- ZHOU, H.; LIU, B.; WEEKS, D. P.; SPALDING, M. H.; YANG, B. (2014). «Large chromosomal deletions and heritable small genetic changes induced by CRISPR/Cas9 in rice». *Nucleic Acids Res.*, núm. 42, p. 10903-10914.