



**USO DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO EN CARPA COMÚN  
 (*Cyprinus carpio*) Y EN SALMÓN (*Oncorhynchus kisutch*). REVISIÓN**

**USE OF GROWTH HORMONE IN COMMON CARP (*Cyprinus carpio*) AND  
 SALMON (*Oncorhynchus kisutch*). REVIEW**

Marco A. Imués-Figueroa<sup>a</sup> MSc, Valerio Sbragaglia<sup>b</sup> MSc PhD, Joan Salas-Leiva<sup>a</sup> MSc PhD

Recibido: 25-12-2015

Aceptado: 08-feb-2016

**RESUMEN**

La hormona del crecimiento (GH) actúa sobre los tejidos y/o a través de los factores de crecimiento o IGFs produciendo hiperplasia o hipertrofia celular. La GH es regulada por la somatostatina, la cual, a su vez, es influenciada por las condiciones ambientales y por el estado nutricional del animal. La conversión alimenticia y la calidad de la composición corporal, entre otras características, pueden ser modificadas mediante la manipulación del gen de la GH. Existen reportes sobre incremento significativo en la tasa de crecimiento de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), salmón del Atlántico (*Salmo salar*), dorada (*Sparus aurata*) y carpa (*Cyprinus carpio*), a través de la manipulación de la expresión génica de la GH y de otros genes. Esta manipulación ha sido aplicada desde hace varios años con el propósito de producir linajes genéticos, de estas y otras especies de peces, buscando incrementar la producción acuícola. Poco se conoce sobre los efectos y consecuencias de los peces transgénicos al entrar en contacto con las poblaciones naturales. En términos comerciales, los consumidores presentan resistencia a productos provenientes de organismos modificados genéticamente, por lo cual hay una disminución de investigaciones en esta área. Esta es una revisión de las investigaciones desarrolladas en carpa común, una de las especies sobre las cuales se tuvo mayores avances.

**Palabras clave:** crecimiento, somatostatina, hipertrofia, hiperplasia, transgénico

**ABSTRACT**

The growth hormone (GH) acts on the tissues and/or through growth factors IGFs generating cellular hyperplasia or hypertrophy. GH is regulated by somatostatin, which in turn is influenced by environmental conditions and by the nutritional status of the animal. Food conversion and biochemical composition of the flesh, among other characteristics, can be modified by manipulating the GH gene. There are reports of significant increase in growth rate of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), atlantic salmon (*Salmo salar*), sea bream (*Sparus aurata*) and carp (*Cyprinus carpio*) through the manipulation of expression GH gene and other genes. Such manipulation has been applied for many years in order to establish genetic lineages of these and other fish species towards increasing the yields in the aquaculture production. Little is

<sup>a</sup> Profesores, Departamento de Recursos Hidrobiológicos, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.

[marcoi@udenar.edu.co](mailto:marcoi@udenar.edu.co), [jsalasleiva@gmail.com](mailto:jsalasleiva@gmail.com)

<sup>b</sup> Investigador Instituto de Ciencias del Mar (ICM), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Barcelona, España. [sbragaglia@icm.csic.es](mailto:sbragaglia@icm.csic.es)

known about the effects and consequences of transgenic fish when they into contact with wild populations. In commercial terms, consumers are resistant to products from genetically modified organisms, causing a decrease in research in this area. Here, we present a review of the research on the GH carried out in common carp, one of the species for which major progress has been reported.

**Keywords:** growth, somatostatin, hypertrophy, hyperplasia, transgenic

---

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento corporal se puede definir como el aumento del tamaño y del número de células, así como de las estructuras de un organismo, lo cual conlleva a un incremento de su tamaño total. El crecimiento somático depende de la capacidad de los organismos para asimilar y utilizar los nutrientes que se encuentran en los alimentos; de este modo, aprovecha los nutrientes del alimento existente en su hábitat, para construir nuevas estructuras celulares y obtener energía (anabolismo y catabolismo).

Por otra parte, numerosos factores contribuyen al crecimiento de los animales, entre otros la composición de la dieta, el ambiente en el que habitan, las características genotípicas y el funcionamiento endocrino. En todos los animales, incluyendo los peces, el crecimiento está gobernado por el eje hipotálamo-pituitaria-adrenales e hígado, a través de la GHRH que estimula la secreción de la hormona del crecimiento (GH, por sus siglas en inglés).

El control de la GH es multifactorial, ya que existen varios estimuladores e inhibidores de su secreción pituitaria. La liberación de esta hormona se controla por la hormona somatostatina, un neuropéptido que inhibe su liberación. La acción de ambas hormonas, GH y somatostatina, pueden ser reguladas principalmente por factores ambientales y estado nutricional <sup>[1]</sup>.

La GH es un polipéptido requerido para el desarrollo y crecimiento en los vertebrados. Su importancia como regulador del crecimiento corporal, además de otras funciones, ha impulsado el estudio para su aplicación en producción animal. Desde que las hormonas del crecimiento de mamíferos mostraron ser

capaces de promover el crecimiento en los peces, ha ido creciendo la atención sobre el uso potencial de dichas hormonas en acuicultura.

La principal función de la GH es regular el crecimiento somático a través de la hipertrofia y/o la hiperplasia celular. Según la hipótesis dual, los efectos de GH se pueden ejercer por una acción directa de la hormona sobre un tejido o indirectamente mediante los factores de crecimiento o IGFs (*Insulin-like growth factors*), al actuar sobre los receptores IGFR y las proteínas de unión o IGFBP.

Mediante la utilización de GH se ha logrado el incremento significativo de salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), salmón del atlántico (*Salmo salar*), dorada (*Sparus aurata*), carpa (*Cyprinus carpio*), entre otras, en la cuales además ha mejorado la conversión alimenticia y la calidad de la composición corporal.

Se asegura que las carpas modificadas genéticamente, con genes provenientes de otras especies ícticas y de humanos, presentan un crecimiento del 150% con respecto a las normales; exhiben, además, tolerancia a bajos niveles de oxígeno, una característica que les permitiría sobrevivir en ríos que se encuentran demasiado contaminados para albergar a las poblaciones naturales.

Aunque se ha realizado algunos estudios sobre el efecto producido sobre las poblaciones naturales, ocasionado por el escape de algunos peces transgénicos, aún se desconocen los efectos a largo plazo. Una hipótesis sugiere que los peces genéticamente modificados podrían competir con las poblaciones naturales y superarlas. Así mismo, la posibilidad de que los peces transgénicos sean portadores de enfermedades, a pesar de ser resistentes a

las mismas, representa una de las preocupaciones a las que es necesario responder. Por otra parte, la resistencia de los consumidores para aceptar productos provenientes de organismos transgénicos, ha ocasionado la disminución en las investigaciones en esta vía, desde que los gobiernos y las instituciones han detenido la financiación y han prohibido, en algunos casos, la comercialización de este tipo de organismos. La producción de peces transgénicos podría beneficiar la industria acuícola, pero las agencias reguladoras no aprueban el tema para aplicación comercial, puesto que aún se considera un riesgo ambiental [2].

Por lo anterior, el presente trabajo pretende describir algunos experimentos realizados para obtener carpa común transgénica con GH, para determinar sus beneficios en cuanto a crecimiento y composición corporal. De igual manera, se describe un estudio desarrollado para obtener salmón transgénico, con el fin de realizar una breve comparación con el crecimiento de las carpas.

### La hormona del crecimiento (GH)

En los peces, la GH afecta muchas funciones, incluyendo el crecimiento somático, el metabolismo energético, la reproducción, la alimentación, la osmo-regulación y otras funciones. Chang y Wong [3] describen el proceso para la liberación y síntesis de GH, el cual está controlado por factores neuroendocrinos del cerebro y de los tejidos periféricos. Aseguran que, algunos reguladores del hipotálamo, influyen en la expresión de unos y otros, formando una red de interacción en la regulación de GH. De esta manera, la liberación de GH es inhibida por la somatostatina con el IGF, como un importante regulador de retroalimentación; sin embargo, la cantidad de GH liberada refleja el equilibrio de las influencias inhibitoras y estimulantes. Los esteroides sexuales y el estado nutricional también pueden modular la expresión y las acciones de la hipófisis de los factores hipotalámicos.

Así mismo, aseguran que los reguladores intrapituitarios, incluyendo la GH, la gonadotropina y la inhibina/activina, proporcionan

actividades autocrinas/paracrinas de control sobre la síntesis y la secreción de GH. A nivel somatotrofo, la expresión del receptor para una multitud de factores neuroendocrinos pueden integrar señales de diferentes reguladores. Sin embargo, las distintas cascadas de señalización superpuestas, utilizadas por diferentes reguladores, permiten ligar una función específica para la regulación de la GH.

Chang y Wong [3] también explican que la GH, junto con la prolactina (PRL) y la somatolactina (SL), son miembros de la familia de las citoquinas. Es comúnmente aceptado que la SL y la PRL fueron derivados ancestrales de la GH durante la fase temprana en la evolución de los gnatóstomos. La adenohipófisis es la principal fuente de GH; sin embargo, también existe GH extrapituitaria (células inmunes, gónadas y cerebro) (Figura 1).

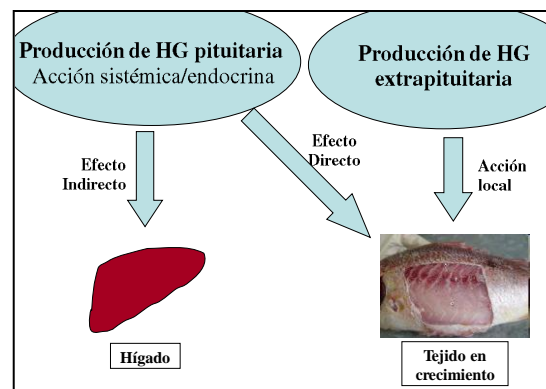


Figura 1. Producción y acción de la GH [3]

### Antecedentes sobre utilización de la GH en el crecimiento de peces

La transferencia de genes es una tecnología clave para la manipulación de los genomas de los animales [4]. Por la introducción de un gen, cuya expresión es importante en la regulación de hormonas y enzimas, los biotecnólogos pueden lograr un impacto dramático sobre fenotipos valorados. Desde mediados de la década de 1980, cuando se produjeron los primeros peces transgénicos [5], se ha realizado estudios de transferencia de genes con más de 35 especies [6]. Una variedad de peces transgénicos han sido desarrollados como modelos experimentales para la investigación biomédica [7, 8, 9]. Transgenes para el factor humano

## Revisión Literaria

de coagulación VII<sup>[10, 11]</sup> e insulina<sup>[12]</sup> se han introducido en la tilapia, con el fin de producir proteínas farmacéuticas de forma rentable<sup>[13]</sup>.

Se han desarrollado muchas líneas transgénicas para el biomonitoreo de los productos químicos en el medio acuático<sup>[14, 15, 16]</sup>. En particular, el desarrollo de peces transgénicos y las líneas de microalgas y mariscos, plantea la tecnología de transferencia genética para la acuicultura continental, que se ha aplicado para abordar varios objetivos de mejoramiento.

La literatura reporta la introducción de la GH en más de una docena de especies, para aumentar la tasa de crecimiento. Por ejemplo, el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), que expresa una GH, exhibió un crecimiento en promedio 11 veces la de los controles no transgénicos<sup>[17]</sup>.

Los genes de proteínas anticongelantes de peces del Ártico o la Antártida, se han transferido para aumentar la tolerancia al frío de las especies sensibles, como el caso del salmón del Atlántico (*Salmo salar*)<sup>[18, 19, 20]</sup>. Los genes para los compuestos bactericidas se han introducido para aumentar la resistencia a las enfermedades no específicas, como la cecropina en bagre de canal (*Ictalurus punctatus*)<sup>[21, 22]</sup> y la lactoferrina humana en la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idellus*)<sup>[23, 24]</sup>. En este sentido, si una vía bioquímica clave es interrumpida por falta de una enzima, la función de esa vía se puede restaurar mediante la expresión de un gen introducido<sup>[25]</sup>.

Los esfuerzos para la comercialización de las líneas transgénicas que expresan los transgenes de la GH están en curso desde hace algunos años. Los productores de salmón del Atlántico (*S. salar*) GH-transgénico han pedido a la FDA (Food and Drug Administration) de los Estados Unidos de América, autorización para la comercialización del salmón del Atlántico transgénicos desde el año 200<sup>[20]</sup>. El gobierno cubano también recibió una solicitud para la producción de tilapia GH-transgénica (*Oreochromis sp.*) en 1999, la cual no fue aceptada<sup>[26]</sup>.

La comercialización de peces transgénicos, sin embargo, plantea la regulación en la seguridad ecológica, alimentaria, y bienestar

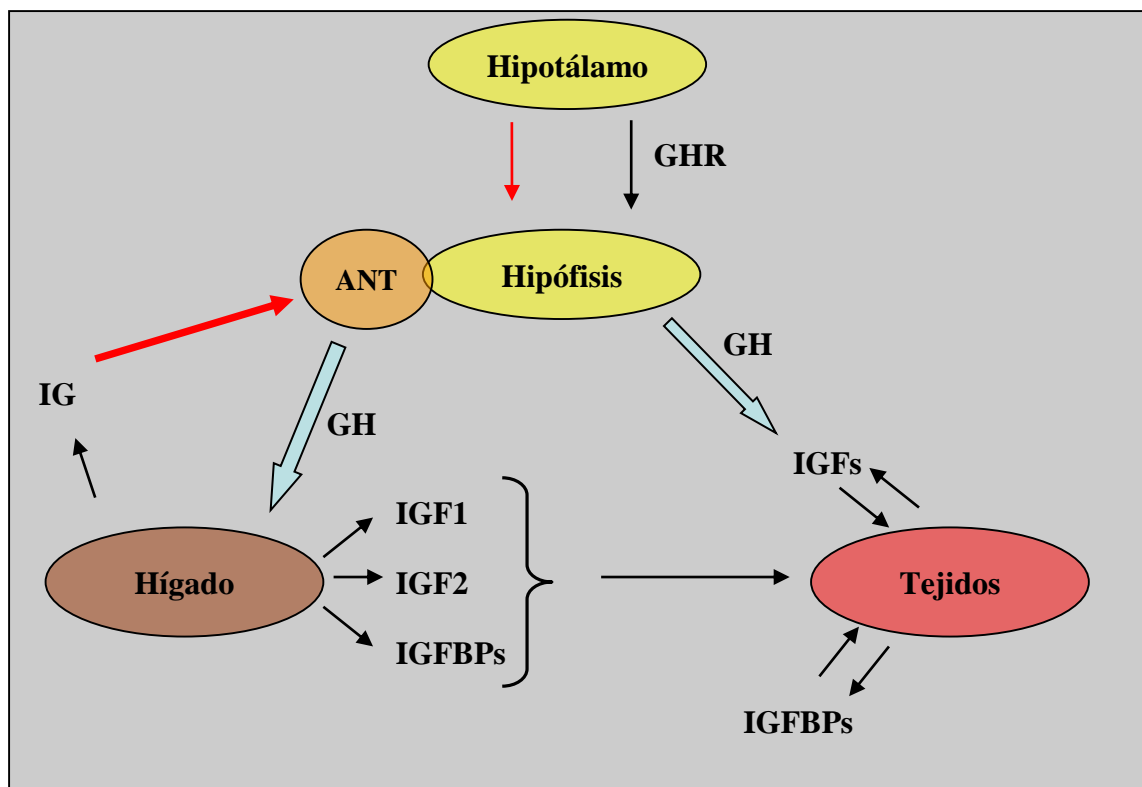
de los animales. Si bien la seguridad ecológica y alimentaria, y las cuestiones reglamentarias, planteadas para los peces transgénicos, se han revisado de forma exhaustiva; las preocupaciones de bienestar animal se han considerado sólo en un sentido amplio para los animales en general<sup>[4]</sup>.

La producción de peces transgénicos ha expandido su foco de investigación a cinco aplicaciones generales: mejorar los rasgos de las especies de importancia comercial, el desarrollo de los peces como biorreactores para producir proteínas biomédicamente importantes, para mejorar la utilidad de los peces como indicadores de efectos adversos para la salud asociados con la exposición a tóxicos en ambientes acuáticos, el desarrollo de nuevos modelos animales no mamíferos para la investigación biomédica comparativa y para los estudios de genómica funcional. Los peces transgénicos que han sido producidos podrían beneficiar a la industria de la acuicultura, pero los organismos reguladores aún tienen que aprobarlos para su aplicación comercial<sup>[2]</sup>.

### Actividad y funciones de la GH en peces

Tres procesos dinámicos contribuyen para la acción de la GH. La primera es la liberación pulsátil de hormonas somatotrofas, con tejidos que responden a los cambios en la frecuencia y la amplitud de los picos, más que a la concentración real. La segunda es la contribución de la GH que transporta proteínas correspondientes al dominio extracelular del receptor de la GH. La proteína transportadora protege a la GH de la degradación y constituye una abundancia en la demanda de hormona. La tercera es el receptor de la hormona del crecimiento, cuya disponibilidad y expresión están reguladas por la misma GH<sup>[27]</sup> (Figura 2).

Aunque las hormonas peptídicas y esteroides han demostrado ejercer efectos positivos sobre el crecimiento de los peces, los mecanismos y sitios de acción de estas hormonas son aún objeto de debate, incluso la simple distinción entre efectos directos e indirectos ha sido difícil de hacer, en parte, debido a los enfoques reduccionistas<sup>[28]</sup>.



**Figura 2. Esquema de las funciones de la hormona del crecimiento** (Adaptado de Mommsen <sup>[27]</sup>).

En general, es aceptado que el eje GH-insulina-IGF-1 juega un papel fundamental en la regulación neuroendocrina del crecimiento de vertebrados <sup>[29]</sup>, pero los mecanismos no están muy claros y pueden ser parcialmente atribuidos a la actividad transcripcional modulativa de los genes GH-IGFI y a las proteínas séricas <sup>[30]</sup>. En peces se presenta como múltiples isoformas de los ligandos GH/IGF, los receptores y las proteínas de unión, con distintos patrones de expresión y funciones. En general, la GH promueve el crecimiento somático mediante la regulación de los GHR, aumentando la síntesis y secreción de IGF, incrementando las IGFBP-3, disminuyendo las IGFBP-1 por parte del hígado. Muchos tejidos son capaces de auto-regular la expresión y la actividad de los componentes del sistema GH/IGF, dando a éste mucho más que una simple función endocrina <sup>[31]</sup>.

El promotor del gen de la GH, en trucha arco iris, contiene un elemento respuesta de la hormona tiroidea, así como otras secuencias potencialmente reguladoras de la expresión del gen de la hormona del crecimiento, expresada por glucocorticoides, ácido retinoico y

CAMP. Adicionalmente, un elemento de respuesta estrogénica (ERE) se ha notado en uno de dos genes de la GH, en trucha arco iris. Por lo menos en el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*), uno de los genes de la GH también parece estar ligado al sexo <sup>[32]</sup>.

Por otra parte, la GH juega un rol importante en la esmoltificación y la adaptación de los salmónidos al agua marina, así como en la biosíntesis hepática de proteínas anticongelantes en teleósteos marinos. De igual manera, regula una serie de funciones metabólicas que, a primera vista, no parecen estar relacionadas e independientes del crecimiento somático <sup>[33]</sup>.

Por su parte, Pérez et al <sup>[34]</sup> demostraron que los dos IGFs son regulados transcripcionalmente por la GH y la GnRH en el hígado y en otros tejidos fuera del hígado, lo cual indica la importancia de los IGFs como un gen clave regulador del crecimiento y la reproducción; además, observaron la misma actividad en las branquias y en las gónadas, lo cual sugiere que ésta actúa como mediador hormonal para ejercer una regulación autocrina/paracrina.

## Experimentos con carpa común transgénica

Las carpas son peces de agua dulce, con gran predominio en la acuicultura mundial. Para el año 2010 se registró una producción de 24,2 millones de toneladas, equivalentes al 71,9% de las especies comestibles de la acuicultura; la carpa común (*Cyprinus carpio*) tuvo una producción mundial aproximada de 3,5 millones de toneladas [35]. Un número considerable de experimentos se ha centrado en el desarrollo de las líneas transgénicas que expresan importantes características para la acuicultura [36, 37, 38, 23, 24]. La producción de carpa común es particularmente importante en la República Popular de China, donde con frecuencia se produce en los sistemas de policultivo, tanques y también con otras especies de carpas, por lo cual, no es de extrañar que se haya desarrollado investigación para la obtención de carpas transgénicas, incluyendo la creación y desarrollo de una línea GH-transgénica que ha tenido gran impulso.

A mediados de la década de 1980, relativamente pocos vectores de expresión estaban disponibles para la modificación intencionada de los fenotipos valorados. Tras el trabajo pionero de Palmiter et al [39] desarrollado en ratón, Zhu et al [5] introdujeron un gen de la hormona del crecimiento humana en peces goldfish (*C. auratus*), la primera transferencia de genes con éxito en peces. Un gen constructo se introdujo más tarde en la carpa común [40]. Algunas de las líneas transgénicas mostraron un crecimiento acelerado [41], con un comportamiento acelerado como especies de interés para la acuicultura.

Una expresión que combina un gen de GH estructural con promotor  $\beta$ -actina en carpa común y en carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*), fue desarrollado y utilizado para producir una línea GH-transgénica de carpa común [42]. Los transgénicos F<sub>1</sub> mostraron tasas de crecimiento del 42-80% mayor que los controles, y un índice de conversión aparente más eficiente: 1,10 para los transgénicos frente a 1,35 para los controles [43] (Zhu, 2000). Los descendientes F<sub>2</sub> de carpa común GH-transgénica particionan su presupuesto

de energía para el metabolismo y la síntesis de proteínas más que los controles [44]. Los F<sub>4</sub> transgénicos mostraron un mayor crecimiento y una utilización más eficiente de la alimentación que los controles, utilizando dietas con 0%, 30% o 40% de proteína [45]. En los niveles de proteína más bajos, los transgénicos consumieron más alimento que en los niveles de proteína más alto, y tuvieron el crecimiento más rápido, con una mayor eficiencia en la conversión de energía [46]. Los transgénicos tetraploides se produjeron para cruzar con diploides normales, para producir triploides estériles dedicados a la producción. Los triploides GH-transgénicos mostraron mejor tasa de crecimiento y eficiencia de conversión alimenticia, y podrían mejorar la rentabilidad de la producción en un estimado de 52% [43], resultados similares a aquellos para los salmónidos transgénicos y la tilapia.

## Estudios para la evaluación de la tasa de crecimiento

Fu et al [45] utilizaron dietas con diferentes niveles de proteína en carpa transgénica F<sub>4</sub>, con hormona del crecimiento humana, las cuales se obtuvieron mediante la introducción del gen humano pMT-hGH en los huevos fertilizados siguiendo la técnica descrita por Zhu, et al [40]. El experimento se llevó a cabo en 18 tanques circulares de 90 litros, fondo plano y desagüe central, conectados a una trampa de sedimentación [47]. Los peces fueron alimentados, en tres grupos diferentes, con sus respectivas réplicas asignadas al azar, con tres dietas isoenergéticas purificadas y a diferentes niveles de proteína (20%, 30%, 40%).

La generación F<sub>4</sub> de carpa común roja transgénica, con la hormona de crecimiento humana (hGH), tuvo una tasa de crecimiento significativamente más alta que en los controles no transgénicos. El consumo de proteína y energía fue significativamente más alto en las carpas transgénicas que en las controles alimentadas con 20% de proteína en la dieta, pero no fue diferente entre las líneas alimentadas con 30% y 40% de proteína. La pérdida en energía fecal, como una proporción de la energía ingerida, fue significativamente más

baja en los transgénicos que en los controles alimentados con 20% de proteína, pero no fue diferente entre las dos líneas alimentadas con 30% y 40% de proteína [45].

Tanto la dieta, como la línea genética afectaron significativamente la tasa de crecimiento específico de lípidos, la ingesta de alimento, la eficiencia de conversión alimenticia y el coeficiente de variación del peso final (Tabla 1). El factor de condición no fue afectado por la dieta y la línea de peces. Para cada dieta, la tasa de crecimiento específico de los lípidos en los transgénicos fue significativamente más alta que en los controles. Para cada

línea, la ingesta de alimento decreció y la eficiencia de conversión alimenticia incrementó con el incremento del nivel de proteína en la dieta.

La ingesta de alimento fue significativamente más alta en los transgénicos alimentados con la dieta de 20%, pero no fue afectada en la línea de peces alimentados con dietas más altas en proteína. La eficiencia de conversión alimenticia fue significativamente más alta en los transgénicos que en los controles alimentados con dietas con 30% y 40% de proteína, pero no fue afectada en la línea en peces alimentados con dieta del 20%.

**Tabla 1. Tasa de crecimiento en peso seco, proteína, lípidos y energía en carpas transgénicas alimentadas con dietas con diferente contenido de proteína [45].**

Proteína	Línea	Gw	Gp	Gl	Ge	FCE	CF
20%	Control	2,0±0,0 <sup>X</sup>	2,2±0,1 <sup>X</sup>	3,1±0,1 <sup>X</sup>	2,7±0,1 <sup>X</sup>	43,0±0,4 <sup>a</sup>	2,8±0,1
	Transgénica	2,5±0,1 <sup>Y</sup>	2,7±0,1 <sup>Y</sup>	3,8±0,1 <sup>Ya</sup>	3,3±0,1 <sup>Y</sup>	46,1±0,5 <sup>a</sup>	2,8±0,1
30%	Control	2,1±0,0 <sup>X</sup>	2,3±0,0 <sup>X</sup>	3,1±0,0 <sup>X</sup>	2,8±0,1 <sup>X</sup>	55,4±0,9 <sup>Xb</sup>	2,7±0,1
	Transgénica	2,5±0,1 <sup>Y</sup>	2,7±0,1 <sup>Y</sup>	3,5±0,1 <sup>Yb</sup>	3,2±0,1 <sup>Y</sup>	60,7±0,9 <sup>Yb</sup>	2,7±0,1
40%	Control	2,1±0,1 <sup>X</sup>	2,6±0,1 <sup>X</sup>	2,9±0,1 <sup>X</sup>	2,8±0,2 <sup>X</sup>	65,6±0,7 <sup>Xc</sup>	2,8±0,1
	Transgénica	2,6±0,1 <sup>Y</sup>	3,0±0,1 <sup>Y</sup>	3,2±0,1 <sup>Yb</sup>	3,3±0,1 <sup>Y</sup>	69,7±1,5 <sup>Yc</sup>	2,8±0,1

Gw: tasa de crecimiento específico (%day<sup>-1</sup>); Gp: tasa de crecimiento proteico (%day<sup>-1</sup>); Gl: tasa de crecimiento lipídico (%day<sup>-1</sup>); Ge: tasa de crecimiento energético (%day<sup>-1</sup>); FCE: Eficiencia de conversión alimenticia (%); CF: Factor de condición. Letras diferentes en las columnas indican diferencias significativas (p<0,05).

La digestibilidad aparente de la materia seca fue significativamente más alta en los transgénicos que en los controles, pero no fue afectada por la dieta. La digestibilidad de la proteína fue significativamente más alta en los transgénicos que en los controles alimentados con 20% y 30% de proteína en la dieta, pero no fue afectada por la línea con 40% de proteína en la dieta.

A pesar de una diferencia del doble en el nivel de proteína en la dieta, las diferencias en la ingesta de proteínas fueron mucho más bajas. La proteína asimilada para crecimiento también aumentó con el incremento en el nivel de proteína de la dieta.

La eficiencia en la conversión alimenticia incrementó, mientras la proteína asimilada para crecimiento decreció con el incremento en el nivel de proteína de la dieta. Las mismas

tendencias han sido reportadas para carpa común [48, 49, 50] y para tilapias [51, 52]. La digestibilidad de la proteína de los peces tendió a disminuirse a medida que la concentración de carbohidratos aumentó, lo cual está de acuerdo con los resultados de experimentos previos en carpa común, así como en otras especies de peces [53, 54, 55, 56].

Ambas dietas y líneas de peces afectaron significativamente los contenidos de materia seca corporal, proteína y lípidos. La dieta, no la línea, tuvo efectos significativos sobre el contenido energético corporal. Para cada línea, el contenido de proteína incrementó, mientras que el contenido de lípidos disminuyó con el incremento en el nivel de proteína dietaria. Para cada dieta, los peces transgénicos mostraron contenidos significativamente más altos de materia seca y de proteína, pero

## Revisión Literaria

contenidos de lípidos más bajos que los controles [45].

El estudio sugiere que, el mecanismo del promotor de crecimiento en la F<sub>4</sub> de la carpa transgénica, puede ser diferente en peces con dietas alimenticias con diferentes niveles de proteína. A un nivel más bajo de proteína dietaria (20%), la carpa transgénica logró una tasa de crecimiento más alta, principalmente por el incremento en el alimento ingerido; a niveles más altos de proteína en la dieta (30% y 40%), la carpa transgénica logró niveles de crecimiento más altos, principalmente a través de una alta eficiencia en la conversión energética. Un estudio previo, con F<sub>2</sub> de carpa hGH-transgénica, mostró que, cuando se comparó con los controles, la carpa transgénica tenía una eficiencia de conversión energética más alta y una proporción más baja de energía del alimento que pasó a ser metabolizada, resultando en una tasa de crecimiento específico más alta [44].

La administración de hormona del crecimiento exógena, bien sea en forma de extracto de pituitaria, hormona del crecimiento purificada u hormona del crecimiento recombinante biosintética, ha reportado incremento en las tasas de crecimiento en muchas especies de peces [57, 58]. A la vez que incrementa la ingesta de alimento [59] y mejora la eficiencia de la conversión, ha sido sugerida para ser el mecanismo mediante el cual la hormona del crecimiento exógeno incrementa el crecimiento de los peces. Se necesitan más estudios sobre la ingesta de energía y la utilización de peces transgénicos, para hacer generalizaciones sobre el mecanismo promotor del crecimiento en genes foráneos.

Mediante otro experimento realizado en verano, Hinitz y Moav [38] estudiaron el comportamiento del crecimiento en carpa común transgénica, cuyos animales fueron obtenidos de un experimento previo, desarrollado por Moav et al [60], en los cuales se inyectó dos genes constructos de “all-fish” FV-1rcsGh y FV-2rcsGH, en cigotos de carpa obtenidos mediante cruzamiento entre machos Dor70 de carpa común y hembras de carpa koi (*C. carpio*). Ocho de las carpas transgénicas F<sub>0</sub> (padres) que llevaban el transgén en su línea

germinal (confirmadas mediante PCR), fueron usadas para establecer la generación F<sub>1</sub>, mediante cruce con una carpa común de Yugoslavia. Esta familia F<sub>1</sub> tenía diferentes porcentajes de descendencia transgénica, debido a diferentes grados de mosaicismo en las células germinales de sus padres transgénicos F<sub>0</sub>. La carpa F<sub>1</sub> madura sexualmente fue detectada por PCR para encontrar individuos transgénicos no mosaicos, adecuados para establecer la generación F<sub>2</sub> para los experimentos de rendimiento en el crecimiento. Al inicio del experimento se obtuvo machos de carpa transgénica F<sub>1</sub> que tenían el gen constructo FV-1rcsGH; tres de estos, #90522, #77E22 y #30066, procedentes de diferentes eventos de integración, fueron cruzados con una carpa hembra Dor70. Para comparación, un macho de carpa común Yugoslava fue cruzada con la misma hembra de carpa Dor70. No se encontró diferencias significativas en las tasas de crecimiento entre el grupo transgénico y el control.

Un segundo experimento fue realizado en invierno, por estos autores, con bajas temperaturas ambientales y mínima alimentación. Se comparó tres grupos de peces: uno transgénico F<sub>1</sub> de carpa que tenía el gen constructo FV-1/csGH; otro que tenía el gen constructo FV-2/cGH (un promotor  $\beta$ -actin de carpa común) [61], fusionado al cDNA de carpa común, de la cual se obtuvo la hormona de crecimiento; el tercero fue uno control no transgénico, de carpa comercial de Israel. Se usó un método de prueba comunal [62] para comparar las tasas de crecimiento de diferentes grupos de carpa transgénica y no transgénica. Los dos grupos transgénicos mostraron mayores tasas de crecimiento, en comparación con el grupo control ( $p < 0,001$ ). Las condiciones de los dos experimentos se resumen en la Tabla 2.

A este respecto, Wohlfarth y Moav [62] señalan que, aunque muchos grupos y variantes de interés se han producido en los peces, en la mayoría de los casos, su rendimiento no ha sido adecuadamente probado. Evaluar cada grupo de peces separadamente requiere muchos estanques, debido a la necesidad de repeticiones para cada grupo. El método de prueba común, en el cual varios grupos están



conviviendo dentro del mismo estanque, es más económico y demostró que grupos con mayor crecimiento en los estanques comunales (condiciones de competitividad) también crecieron más rápido en estanques separados (no competitividad).

**Tabla 2. Condiciones experimentales en verano e invierno** <sup>[62]</sup>.

	Experimento de Verano	Experimento de Invierno
Temperatura	25-29	7-18
Dieta	40% proteína	20% proteína
Tasa diaria	5% del peso	0,5% del peso
Repetición	4	1
Peso inicial	50-100 g	20 g

Para comparar adecuadamente la ganancia de peso de los diferentes genotipos, el peso ganado debe ser corregido cuando existe una clara correlación con el peso inicial de los grupos. La corrección y la estandarización se hacen mediante el cálculo del factor de corrección de la ecuación de predicción, basado en datos empíricos de los experimentos de crecimiento, usando el método de cultivo múltiple <sup>[63]</sup>.

Las ganancias de peso corregidas indicaron que no existe correlación con el peso inicial y, por lo tanto, pueden considerarse estimaciones confiables de las tasas de crecimiento relativo de los grupos evaluados en los estanques comunales. La comparación de la ganancia de peso corregido, de los cuatro grupos en la prueba de verano, no mostró diferencias significativas entre las familias transgénicas y el grupo no transgénico. El crecimiento fue rápido; en promedio los peces crecieron de 80 a 500 g en 80 días, similar a la tasa presentada en experimentos previos en la misma estación <sup>[62]</sup>.

Este experimento no es suficiente para mostrar una evidencia clara y positiva para mostrar el resultado de la expresión en cualquiera de los grupos transgénicos. Es posible que los transgenes se supriman o que no se expresen o que se expresen con una eficiencia muy baja. Una razón para el bajo nivel de ex-

presión, observado en el experimento de verano, puede ser debido a la fuerza promotora, que a su vez es débil, ya que sólo contiene el promotor proximal del gen  $\beta$ -actina de la carpa común. Diferencias similares se encontraron cuando estos promotores se probaron en cultivos de células de tejido epitelial de carpa <sup>[60]</sup>. Por lo tanto, había razones para esperar que la carpa transgénica F<sub>2</sub>, que contenía el transgén FV-2, habría de alcanzar una tasa de crecimiento más alta que la carpa con el transgén FV-1.

Muy pocos experimentos de crecimiento se han desarrollado en el pasado durante el invierno. Wohlfarth <sup>[64]</sup>, en otoño, no encontró diferencias significativas en las tasas de crecimiento de ninguno de los grupos; en invierno, en contraste, los mismos grupos mostraron diferencias en la tasa de crecimiento, sin que haya correlación con las diferencias en su peso corporal inicial, concluyendo que vale la pena seleccionar por la capacidad de crecimiento específico en invierno. Esto también se podría hacer con la carpa transgénica, que puede ser superior en su crecimiento para líneas comerciales a temperaturas bajas, resultados que son apoyados en los trabajos de Fine et al <sup>[65]</sup>.

### **Patrón de aminoácidos en el cuerpo completo de la carpa común roja *Cyprinus carpio***

Fu et al <sup>[46]</sup> realizó el análisis completo de aminoácidos en el cuerpo de la carpa común, el cual mostró que las proporciones de lisina, leucina, fenilalanina, valina y alanina, como porcentajes de la proteína corporal, incrementaron significativamente, sin embargo, los de arginina, ácido glutámico y tirosina decrecieron, con un incremento en el nivel dietario de proteína en al menos un grupo de peces, similares a los reportados para carpa común transgénica y otros ciprínidos por Schwarz & Kirchgessner <sup>[66]</sup>. Las proporciones de otros aminoácidos no fueron afectadas por las dietas (Tabla 5).

**Tabla 5. Aminoácidos esenciales y no esenciales (como porcentaje de la proteína) de las carpas transgénicas y del control alimentados con dietas de diferentes tasas de proteína <sup>[66]</sup>.**

Aminoácido	Dieta 20% proteína		Dieta 30% proteína		Dieta 40% proteína	
	Transgén	Control	Transgén	Control	Transgén	Control
Lisina	7,7 ± 0,0 <sup>a</sup>	7,4 ± 0,0 <sup>a</sup>	7,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	7,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	8,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,1 <sup>a</sup>
Metionina	3,1 ± 0,1	2,9 ± 0,1	3,1 ± 0,2	2,9 ± 0,0	3,3 ± 0,1	3,2 ± 0,1
Treonina	4,4 ± 0,2	4,3 ± 0,2	4,4 ± 0,2	4,5 ± 0,5	4,5 ± 0,1	4,8 ± 0,1
Leucina	6,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	7,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	7,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	7,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	8,9 ± 0,5 <sup>a</sup>
Isoleucina	4,4 ± 0,1	4,3 ± 0,3	4,2 ± 0,1	4,6 ± 0,2	4,4 ± 0,1	5,1 ± 0,3
Histidina	2,9 ± 0,0	2,8 ± 0,1	2,9 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,7 ± 0,0
Arginina	7,9 ± 0,0 <sup>b</sup>	7,9 ± 0,2 <sup>b</sup>	7,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	7,5 ± 0,2 <sup>b</sup>	7,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	6,9 ± 0,1 <sup>b</sup>
Fenilalanina	4,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	3,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	3,2 ± 0,0 <sup>a</sup>
Valina	4,9 ± 0,0 <sup>a</sup>	4,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,2 ± 0,1 <sup>a</sup>
Cistina	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0
Serina	4,5 ± 0,0	4,6 ± 0,1	4,3 ± 0,0	4,4 ± 0,1	4,5 ± 0,2	4,6 ± 0,1
Ácido aspártico	7,2 ± 0,1	6,4 ± 0,1	6,8 ± 0,1	6,8 ± 0,1	7,1 ± 0,2	6,8 ± 0,2
Ácido glutámico	17,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	17,1 ± 0,1 <sup>b</sup>	16,5 ± 0,3 <sup>b</sup>	16,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	15,5 ± 0,2 <sup>b</sup>	15,8 ± 0,3 <sup>b</sup>
Prolina	5,2 ± 0,1	5,5 ± 0,2	5,5 ± 0,2	5,6 ± 0,2	5,4 ± 0,3	5,7 ± 0,1
Glicina	9,0 ± 0,1	8,9 ± 0,1	8,6 ± 0,1	8,7 ± 0,4	8,8 ± 0,1	8,4 ± 0,1
Alanina	6,7 ± 0,1	7,3 ± 0,1	6,9 ± 0,2	7,6 ± 0,2	7,6 ± 0,1	7,5 ± 0,0
Tirosina	4,0 ± 0,1	4,0 ± 0,2	3,6 ± 0,1	3,4 ± 0,2	3,6 ± 0,1	3,6 ± 0,1
Triptófano	7,7 ± 0,0	7,4 ± 0,0	7,9 ± 0,1	7,5 ± 0,1	8,4 ± 0,1	8,0 ± 0,1
Lisina	3,1 ± 0,1 <sup>c</sup>	2,9 ± 0,1 <sup>c</sup>	3,1 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,9 ± 0,0 <sup>c</sup>	3,3 ± 0,1 <sup>c</sup>	3,2 ± 0,1 <sup>c</sup>
Metionina	4,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	4,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	4,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	4,5 ± 0,5 <sup>b</sup>	4,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	4,8 ± 0,1 <sup>b</sup>

Las diferencias significativas entre los valores son identificadas con diferentes letras (a, b, c).

Las proporciones de lisina y arginina fueron significativamente más altas, aunque aquellas de leucina y alanina fueron más bajas en los transgénicos que en los controles, en al menos un grupo dietario. Los resultados sugieren que, el patrón de aminoácidos completos de la carpa transgénica, cuando se expresan como una proporción de la proteína corporal, fue en general, similar a la de los controles no transgénicos.

En los aminoácidos esenciales, la proporción de lisina fue significativamente más alta en los transgénicos que en los controles sin tener en cuenta las dietas. La proporción de leucina fue significativamente más baja en los transgénicos que en los controles alimentados con 20% y 40% de proteína en la dieta, pero no fue afectada por la línea en peces alimentados con 30% de proteína en la dieta. La proporción de arginina fue significativamente más alta en transgénicos que en controles alimentados con 40% de proteína en la dieta, pero no fue afectado por la línea, en peces alimentados con dietas que tenían bajo nivel de proteína. De los aminoácidos no esenciales, la proporción de alanina fue significativamente

más baja en los transgénicos que en los controles alimentados con 20% y 30% de proteína dietaria; las proporciones de otros aminoácidos no esenciales y del total de estos aminoácidos, no fueron afectadas por la línea.

Chatakondi et al <sup>[37]</sup> reportaron que los contenidos de 14 de 18 aminoácidos musculares fueron más altos en carpas transgénicas que contenían el gen de trucha arco iris, que en los controles. En el estudio de Fu, et al <sup>[46]</sup>, solamente 4 de 17 aminoácidos corporales analizados fueron significativamente diferentes entre los transgénicos y los controles. Estos autores concluyeron que el perfil de aminoácidos del cuerpo completo de la carpa transgénica, cuando se expresó como proporción de la proteína corporal, fue en general, similar a la de los controles no transgénicos.

### Experimentos en *Cyprinus carpio* transgénica con un gen GH de trucha arcoiris

Chatakondi et al <sup>[32]</sup> estudió una población F1 de carpa común transgénica, que contenía un gen de la hormona del crecimiento procedente de trucha arco iris pRSVrtGH<sub>1</sub> cDNA, la cual

fue comparada con un grupo no transgénico de hermanos completos, en cuanto a la composición corporal. La composición proximal en la proteína del músculo de carpa transgénica fue diferente ( $p < 0,05$ ) con respecto al grupo control,  $19,5 \pm 0,42\%$  en el primero y  $18,1 \pm 0,86\%$  en el segundo, lo cual significa que la expresión del gen de la hormona del crecimiento juega un papel importante en la composición del músculo, ya que en la carpa transgénica se incrementó en cerca del  $7,5\%$  (Tabla 6).

El porcentaje de grasa ( $3,31 \pm 0,26\%$ ) y el de humedad ( $70,94 \pm 1,20\%$ ) fue menor ( $p < 0,05$ ) para la carpa transgénica que para el grupo control ( $75,81 \pm 1,51\%$  y  $3,80 \pm 0,19\%$  respectivamente), notando una disminución del  $13\%$  e incremento del  $6,5\%$  en la humedad. Los niveles de energía bruta en el músculo no fueron diferentes entre el control ( $111,71$  kcal/100 g) y la carpa transgénica ( $113,13$  kcal por 100 g), la cual fue calculada a partir de la proteína y la grasa del músculo del pez usando los factores de conversión  $4,27$  kcal.g<sup>-1</sup> para la proteína y  $9,02$  kcal.g<sup>-1</sup> para la grasa, descritos por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) para la energía bruta en productos cárnicos.

**Tabla 6. Composición corporal de la carpa transgénica y del control** [32].

Nutriente	Carpa transgénica	Control
Proteína	$19,48 \pm 0,42$	$18,13 \pm 0,86$
Grasa <sup>a</sup>	$3,31 \pm 0,26$	$3,80 \pm 0,19$
Humedad <sup>a</sup>	$70,94 \pm 1,20$	$75,81 \pm 1,51$

a: Diferencias significativas.

El incremento en la proteína y la reducción en la grasa son económicamente deseables, puesto que la carne de los peces transgénicos puede ser considerada más saludable para el consumo humano y se espera algunas implicaciones positivas para la cultura. La reducción del contenido de grasa podría incrementar la vida útil de la carcasa [67], reducir la tendencia del pescado a absorber mal sabor e incrementar su habilidad para tolerar bajos niveles de oxígeno disuelto [68].

Rexroad et al [69] atribuyen la reducción de la grasa a la hiperglicemia y a la glucosuria en

animales transgénicos, hecho que ha sido observado en forma similar en cerdos inyectados diariamente con la hormona somatotropina porcina [70], lo cual fue atribuido a la acción directa de esta hormona.

Sheridan et al [71] reportaron que la somatotropina endógena estimula la liberación de ácidos grasos libres a partir de hígado de salmón coho in vivo, y es posible que el gen de la hormona del crecimiento de la trucha arco iris, en el mencionado estudio, pueda tener efectos similares. De los 18 aminoácidos examinados, el genotipo transgénico tenía más altos ( $p < 0,05$ ) niveles para el ácido aspártico, cistina, ácido glutámico, histidina, lisina y treonina (Tabla 7).

**Tabla 7. Composición de los aminoácidos (g/100 g músculo) de las carpas transgénicas y controles** [71].

Aminoácido	Carpa transgénica	Control
Lisina	$2,44 \pm 0,17^a$	$2,17 \pm 0,21^a$
Metionina	$0,74 \pm 0,07$	$0,65 \pm 0,11$
Treonina	$1,13 \pm 0,05^a$	$1,03 \pm 0,02^a$
Leucina	$1,97 \pm 0,15$	$1,76 \pm 0,18$
Isoleucina	$1,09 \pm 0,08$	$0,99 \pm 0,10$
Histidina	$0,74 \pm 0,06^a$	$0,60 \pm 0,07^a$
Arginina	$1,72 \pm 0,16$	$1,54 \pm 0,15$
Fenilalanina	$1,08 \pm 0,08$	$1,01 \pm 0,04$
Valina	$1,25 \pm 0,15$	$1,18 \pm 0,22$
Cistina	$0,07 \pm 0,001^a$	$0,06 \pm 0,001^a$
Serina	$1,06 \pm 0,06$	$0,99 \pm 0,01$
Ác. aspártico	$2,62 \pm 0,14^a$	$2,43 \pm 0,12^a$
Ác. glutámico	$3,85 \pm 0,23^a$	$3,54 \pm 0,14^a$
Prolina	$0,97 \pm 0,16$	$1,05 \pm 0,07$
Glicina	$1,20 \pm 0,09$	$1,48 \pm 0,33$
Alanina	$1,54 \pm 0,16$	$1,54 \pm 0,15$
Tirosina	$0,84 \pm 0,05^d$	$0,77 \pm 0,99^d$
Triptófano	$0,35 \pm 0,07^d$	$0,37 \pm 0,04^d$
Lisina	$2,44 \pm 0,17^d$	$2,17 \pm 0,21^d$
Metionina	$0,74 \pm 0,07$	$0,65 \pm 0,11$
Treonina	$1,13 \pm 0,05^d$	$1,03 \pm 0,02^d$

Diferencias significativas entre los valores son identificadas con diferentes letras (a, b, c).

Los valores observados por Chatakondi et al [37], para los individuos transgénicos, fueron más altos para todos los aminoácidos, excepto en la glicina, la alanina, la prolina y el triptófano. La relación de los 18 aminoácidos restantes fue la misma, excepto los porcentajes

## Revisión Literaria

incrementados desde 15,4% a 15,8% y 2,7 a 3,0%, para ácido glutámico e histidina, y decreciente de 6,6 a 5,9% para glicina, en los individuos transgénicos. La relación de aminoácidos esenciales lisina e histidina fue mayor ( $p < 0,05$ ) en los animales transgénicos, en el músculo de los peces.

La composición de ácidos grasos en el músculo de los peces transgénicos fue similar a la del control. La mayoría de los ácidos grasos (aproximadamente 55 g por 100 g) fueron mono insaturados, con predominio del ácido oleico. Cerca de un cuarto del total de lípidos fueron saturados, compuestos en su mayoría por ácido palmítico. La composición de n-3 ácidos grasos altamente insaturados (20:5, n-3 y 22:6, n-6) ácido eicosapentaenoico (EDA) y ácido decosahexaenoico (DHA) fue 1,55 por 100 g y 1,42 por 100 g para peces transgénicos y el control, respectivamente. La media de ácidos totales para cada grupo no fue diferente ( $p > 0,05$ ) entre la carpa común transgénica y la del grupo control.

En este experimento, el efecto del gen de la hormona del crecimiento fue observado en los aminoácidos tisulares pero no en los perfiles de los ácidos grasos. A partir del incremento en el porcentaje de la proteína en la carpa común transgénica, el nivel de ciertos aminoácidos también debería incrementar. Las medias observadas de 14 de 18 aminoácidos de la carpa transgénica fueron más altas que para el control (solamente seis fueron estadísticamente más altos). La relación de los diferentes aminoácidos se mantuvo relativamente sin cambio en la carpa transgénica, en relación con el control. Sin embargo, el ácido glutámico incrementó desde 15,4 a 15,8%, la histidina incrementó de 2,7 a 3,0% y la glicina decreció de 6,6 a 4,9% del total de aminoácidos ( $p < 0,05$ ) para el músculo transgénico, comparado con el músculo control.

Cowey y Tacon <sup>[72]</sup> reportaron una alta correlación entre los requerimientos de aminoácidos esenciales dietarios y la composición de aminoácidos esenciales en carpa común. Gatlin <sup>[73]</sup> demostró la utilidad de la relación aminoácidos/energía (A/E) como una base para la elaboración de dietas. En el estudio de Chatakondi et al <sup>[37]</sup>, la relación A/E de la

carpa transgénica y del control fueron similares, excepto en histidina y lisina, que fueron más altos ( $p < 0,05$ ) en la carpa transgénica al ser comparada con el músculo de carpa del grupo control, tal vez porque no proporcionó la cantidad suficiente de los aminoácidos requeridos por el pez con el más deseable perfil de aminoácidos esenciales <sup>[74]</sup>. La provisión del nivel mínimo de proteína en la dieta con el perfil adecuado de aminoácidos esenciales debería satisfacer los requerimientos de aminoácidos de las especies de peces.

## El suceso del salmón transgénico

Devlin et al <sup>[75]</sup> realizaron un estudio para evaluar el crecimiento y las características genéticas de líneas de salmón coho GH transgénico, los cuales fueron producidos usando la cepa del río Chehalis <sup>[76, 17, 77]</sup> con el gen constructo OnMTGH1 (320 pb) del promotor metalotioneína-B de salmón fusionado a la región 5V-UTR del gen de la hormona del crecimiento de tipo I (full length) <sup>[78]</sup>.

Las cepas de salmón se desarrollaron a partir de animales fundadores, producidos por cruzamiento de animales transgénicos para el salmón coho no transgénicos del río Chehalis para producir generaciones de progenie retrocruzadas. Los animales fueron cultivadas en agua dulce y agua marina ( $10 \pm 1^\circ\text{C}$ ) hasta que fueron evidentes signos de esmoltificación, después de lo cual los grupos se mantuvieron, ya sea en agua dulce o transferidos al agua de mar (temperatura de  $14,8^\circ\text{C}$ ), dependiendo de la prueba experimental. Las densidades de peces se mantuvieron por debajo de  $10 \text{ kg/m}^3$ . Fueron alimentados con dietas de salmón comercialmente disponibles (Skretting, Vancouver, Canadá), a saciedad.

Se produjo animales triploides, mediante un shock de presión (10.000 psi durante 5 min) a los huevos que habían sido incubados a  $10^\circ\text{C}$  durante 30 minutos después de la fecundación. La ploidía de los grupos experimentales fue confirmada mediante el análisis de glóbulos rojos. Devlin et al <sup>[79]</sup> tomaron huevos de salmón coho, procedentes de hembras silvestres, para ser microinyectados con el gen constructo OnMTHG1 durante el

otoño. De seis animales grandes (261,8-504 g) y seis pequeños (9,9-13,3 g) transgénicos de salmón examinados, cinco de los primeros y solamente uno de estos últimos reveló secuencias transgénicas mediante el análisis “Southern blot”, a pesar de que estos animales habían sido positivos para el transgén por análisis PCR.

A los seis meses de edad, la tasa específica de crecimiento (SGR) fue de 1,18 a 1,54 veces mayor en peces transgénicos, mientras que el factor de condición fue ligeramente menor; al final del período los salmones transgénicos mostraron una coloración típica, perdiendo las marcas de salmoncillo juvenil y adquiriendo coloración plateada, lo cual puede ser una influencia del ambiente de agua dulce.

En la siguiente fase de crecimiento, 130 días después del monitoreo, dos familias cultivadas en agua dulce y en agua marina, separadamente, mostraron un patrón de ganancia de peso, con una baja variación en cada familia, tanto para longitud como para peso. A los 280 días después de la primera alimentación, todas las familias transgénicas fueron más pesadas que sus hermanas no transgénicas y crecieron a tasas típicas de cepas salvajes, durante el primer año de vida en agua dulce. El crecimiento de cada familia en agua marina fue mayor que la observada para agua dulce, pero rangos del mismo orden de crecimiento fueron observadas en diferentes familias entre cultivos en agua marina y agua dulce.

Líneas individuales de salmón coho transgénico presentaron tasas de crecimiento diferentes, en alevinos y en juveniles, tanto en agua dulce como en agua de mar. Las diferencias en las tasas de crecimiento entre familias fueron mantenidas bajo diferentes condiciones ambientales (agua marina y dulce), indicando que las tasas de crecimiento relativo es inherente a cada cepa y que los efectos ambientales pueden actuar en forma aditiva, con

la estimulación endocrina derivada del transgén. Las tasas de crecimiento específico de las cepas sugieren que las características del sitio de inserción y la estructura del transgén juegan un papel importante en la expresión y consecuente efecto fisiológico del transgén.

En animales  $G_0$ , existe una pobre correlación entre el número de copias del transgén y el crecimiento, porque los niveles diferentes de mosaicismo probablemente existen en estos animales. Sin embargo, tampoco se observó una correlación en las siguientes generaciones, sugiriendo que el sitio de inserción juega un rol mayor, afectando la expresión del transgén. Pobres correlaciones entre la expresión del transgén y el crecimiento, pueden ser previstas debido a las anomalías derivadas de la sobreexpresión<sup>[77, 80]</sup>.

La tecnología de esterilización usando triploides es un enfoque que viene siendo considerado para reducir la interacción reproductiva entre los animales transgénicos escapados y los coespecíficos de poblaciones salvajes<sup>[81]</sup>. El rendimiento en el crecimiento de los diploides BC1 y los triploides transgénicos y no transgénicos de salmón coho, se examinaron durante un período de 382 días, en agua dulce. Tanto los animales transgénicos diploides como triploides tuvieron un crecimiento mucho mayor que sus hermanos no transgénicos. Sin embargo, al igual que el salmón transgénico, el peso final de los animales transgénicos triploides se redujo en 28,9% en relación con los transgénicos diploides, al final del experimento. Durante el experimento, la viabilidad general de animales triploides transgénicos (93,3%) fue superior que en los diploides transgénicos (87,8%), diploides no transgénicos (96,9%) y triploides (70%). El factor de condición de los peces transgénicos fue ligeramente mayor que los animales no transgénicos, pero no se observó efecto consistente de la ploidía entre los genotipos.

## CONCLUSIONES

La obtención de carpa transgénica, para optimizar la tasa de crecimiento en cultivo, ofrece grandes ventajas. La técnica genética necesita de atención en la inserción del gen foráneo en

particular en los cruzamientos siguientes para obtener deferentes generaciones.

Los resultados presentados y discutidos en este trabajo muestran un aumento de la tasa de

crecimiento en carpa transgénica, aunque existe ambigüedad en los resultados, puesto que no hay una respuesta generalizada que garantice la transgénesis con GH.

Aunque, los peces transgénicos, con respecto a los controles, muestran un aumento en la tasa de ingesta directamente relacionado con la disminución de la proteína en la dieta.

La carpa transgénica muestra diferentes variaciones tanto en los aminoácidos esenciales corporales, como en los no esenciales. Sin embargo, el patrón de variación no está bien definido, lo cual se puede atribuir a una diferente expresión del gen en relación, a los parámetros ambientales y a la diferente respuesta fisiológica de los peces.

En general, la hormona del crecimiento estimula la síntesis proteica y, en particular, la movilización de lípidos en carpa transgénica, debido al papel de la GH en vertebrados.

Los resultados obtenidos en diferentes experimentos con carpa transgénica, en comparación con los alcanzados en salmón transgénico, muestran diferencias extraordinarias, con una ganancia de peso de 10 veces mayor respecto al control.

Estas diferencias se pueden justificar por cuanto las dos especies pertenecen a distintos grupos filogenéticos, con diferente historia evolutiva en su adaptación fisiológica y ecológica; además, la carpa es un pez herbívoro u omnívoro, mientras el salmón es un animal carnívoro predador; estos dos comportamientos diferentes se reflejan en su biología y fisiología. Por otra parte, la carpa presenta un músculo con estructura diferente al salmón, con una elevada vascularización y un buen porcentaje de músculo rojo. Una diferencia tan grande en la relación músculo blanco y rojo, puede influir en la actuación de la GH que actúa en manera directa e indirecta sobre este tejido.

Los resultados reportados en los experimentos descritos, justifican, desde el punto del incremento en la producción, la introducción de un gen foráneo de GH en carpa común y en salmón.

Se hace necesario realizar estudios muy detallados sobre la introducción de peces transgénicos en el medio natural y el posible efecto en el humano, como resultado de su consumo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Canosa LF, Chang JP, Peter RE. Neuroendocrine control of growth hormone in fish. *General and Comparative Endocrinology*. 2007; 151: 1-26.
- [2] Dunham RA, Winn RN. 11-Production of transgenic fish. In: Pinkert CA (Ed). *Transgenic animal technology: A laboratory handbook*. 3rd ed. London: Elsevier. 2014; pp. 305-334.
- [3] Chang JP, Wong AOL. Chapter 4 Growth hormone regulation in fish: A multifactorial model with hypothalamic, peripheral and local. *Fish Physiology*. 2009; 28: 151-195.
- [4] National Research Council (NRC). *Animal Biotechnology: Scientific Concerns*. National Academy Press, Washington, 2002.
- [5] Zhu Z, Li G, He L, Chen S. Novel gene transfer into the fertilized eggs of goldfish (*Carassius auratus* L. 1758). *Z. Angew. Ichthyol*. 1985; 1: 31-34.
- [6] Zbikowska HM. Fish can be first—advances in fish transgenesis for commercial applications. *Transgenic Res*. 2003; 12: 379-389.
- [7] Dodd A, Curtis PM, Williams LC, Love DR. Zebrafish: bridging the gaps between development and disease. *Hum. Mol. Genet*. 2000; 9: 2443-2449.
- [8] Dooley K, Zon LI. Zebrafish: a model system for the study of human disease. *Curr. Opin. Genet. Dev*. 2000; 10: 252-256.
- [9] Ward AC, Lieschke GJ. The zebrafish as a model system for human disease. *Front. Biosci*. 2002; 7: 827-833.
- [10] Maclean N, Rahman MA, Sohm F, Hwang G, Iyengar A, Ayad H, Smith A, Farahmand H. Transgenic tilapia and the tilapia genome. *Gene*. 2002; 295 (2): 265-277.

- [11] Avashti A. GM fish produce cheap blood-clotting agent. *New Scientist*. 2004. <http://www.newscientist.com> (Consultado en septiembre 27, 2015).
- [12] AquaNet. Production of transgenic tilapia for the treatment of diabetes: ES-cell Approach. 2005. <http://www.aquanet.com>. (Consultado en noviembre 17, 2015).
- [13] Hallerman EM, McLean E, Fleming IA. Effects of growth hormone transgenes on the behavior and welfare of aquacultured fishes: A review identifying research needs. *Applied Animal Behaviour Science*. 2007; 104: 265–294.
- [14] Winn RN, Norris MB, Brayer KJ, Torres C, Muller SL. Detections of mutations in transgenic fish carrying a bacteriophage  $\lambda$  cII transgene target. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000; 97: 12655–12660.
- [15] Amanuma K, Takeda H, Amanuma H, Aoki Y. Transgenic zebrafish for detecting mutations caused by compounds in aquatic environments. *Nat. Biotechnol.* 2000; 18: 62–65.
- [16] Carvan MJ, Dalton TP, Stuart GW, Nebert DW. Transgenic zebrafish as sentinels for aquatic pollution. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000; 919: 133–147.
- [17] Devlin RH, Byatt JC, McLean E, Yesaki TY, Krivi GG, Jaworski EG, Clarke WC, Donaldson EM. Bovine placental lactogen is a potent stimulator of growth and displays strong binding to hepatic liver receptor sites of coho salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1994; 95: 31–41.
- [18] Fletcher GL, Shears MA, King MJ, Goddard SV, Kao MH, Du SJ, Davies PL, Hew CL. Biotechnology for aquaculture: transgenic salmon with enhanced growth and freeze-resistance. *Bull. Aquacult. Assoc. Can.* 1992; 92 (3): 31–33.
- [19] Fletcher GL, Davies PL, Hew CL. Genetic engineering of freeze resistant Atlantic salmon. In: Hew CL, Fletcher GL (Eds.). *Transgenic fish*. River Edge, NJ: World Scientific Publishing; 1992. p. 190–208.
- [20] Fletcher GL, Shears MA, Yaskowiak ES, King MJ, Goddard SV. Gene transfer: potential to enhance the genome of Atlantic salmon for aquaculture. *Aust. J. Exp. Agric.* 2004; 44: 1095–1100.
- [21] Dunham RA, Ramboux AC, Duncan PL, Hayat M, Chen TT, Lin CM, Kight K, Gonzalez-Villasenor I, Powers DA. Transfer, expression and inheritance of salmonid growth hormone genes in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, and effects on performance traits. *Mar. Mol. Biol. Biotechnol.* 1992; 1: 380–389.
- [22] Dunham RA, Warr GW, Nichols A, Duncan PL, Argue B, Middleton D, Kucuktas H. Enhanced bacterial disease resistance of transgenic channel catfish *Ictalurus punctatus* possessing cecropin genes. *Mar. Biotechnol.* 2002; 4: 338–344.
- [23] Zhong J, Wang Y, Zhu Z. Introduction of the human lactoferrin gene into grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) to increase resistance against GCH virus. *Aquaculture*. 2002; 214: 93–101.
- [24] Mao W, Wang Y, Wang W, Wu B, Feng J, Zhu Z. Enhanced resistance to *Aeromonas hydrophila* infection and enhanced phagocytic activities in human lactoferrin-transgenic grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Aquaculture*. 2004; 242: 93–103.
- [25] Krasnov A, Pitkanen TI, Molsa H. Gene transfer for targeted modification of salmonid fish metabolism. *Genet. Anal.* 1999; 15: 115–119.
- [26] Guillen I, Berlanga J, Valenzuela CM, Morales A, Toledo J, Estrada MP, Puentes P, Hayes O, La Fuente J. Safety evaluation of transgenic tilapia with accelerated growth. *Mar. Biotechnol.* 1999; 1: 2–14.
- [27] Mommsen TP. Growth and metabolism. In: Evans DH (Ed.). *The Physiology of Fishes*. Boca Raton: CRC Press; 1998. p. 65–97.
- [28] Mommsen TP. Paradigms of growth in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 2001; 129: 207–219.

- [29] Wood AW, Duan C, Bern HA. Insulin-like growth factor signaling in fish. London: International Review of Cytology, Academic Press. 2005; pp. 215–285.
- [30] Tu Y, Xie S, Hana D, Yang Y, Jin J, Liua H, Zhu X. Growth performance, digestive enzyme, transaminase and GH-IGF-I axis gene responsiveness to different dietary protein levels in broodstock allogonogynetic gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) CAS III. *Aquaculture*. 2015; 446: 290–297.
- [31] Reindl KM, Sheridan MA. Peripheral regulation of the growth hormone-insulin-like growth factor system in fish and other vertebrates. *Comparative Biochemistry and*
- [32] Yang BY, Chan KM, Lin CM, Chen TT. Characterization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth hormone 1 gene and the promoter region of growth hormone 2 gene. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1997; 340 (2): 359–368.
- [33] McCormick SD, Sakamoto T, Hasegawa S, Hirano T. Osmoregulatory actions of insulin-like growth factor-I in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Endocrinol.* 1996; 130: 87–92.
- [34] Pérez L, Ortiz-Delgado JB, Manchado M. Molecular characterization and transcriptional regulation by GH and GnRH of insulin-like growth factors I and II in white seabream (*Diplodus sargus*). *Gene*. 2015; In press.
- [35] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Acuicultura (FAO). Estado mundial de la pesca y la acuicultura, Sofía 2012. Roma: Departamento de Pesca y Acuicultura; 2012.
- [36] Zhang PJ, Hayat M, Joyce C, Gonzalez-Villasenor LI, Lin CM. Gene transfer, expression and inheritance of pRSV-rainbow trout-GH cDNA in the common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus). *Mol. Reprod. Dev.* 1990; 25: 3–13.
- [37] Chatakondi N, Lovell RT, Duncan PL, Hayat M, Chen TT, Powers DA, Weete JD, Cummins K, Dunham RA. 1995. Body composition of transgenic common carp, *Cyprinus carpio*, containing rainbow trout growth hormone gene. *Aquaculture*. 1995; 138: 99–109.
- [38] Hinits Y, Moav B. 1999. Growth performance studies in transgenic *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*. 1999; 173: 285–296.
- [39] Palmiter RD, Brinster RL, Hammer RE, Trumbauer ME, Rosenfeld MG, Birnberg, NC, Evans RM. Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion gene. *Nature*. 1982; 300: 611–615.
- [40] Zhu Z, Xu K, Xie Y, Li G, He L. A model of transgenic fish. *Sci. Sin.* 1989; 2: 147–155.
- [41] Wei Y, Xie Y, Xu K, Li G, Liu D, Zou J, Li J, Zhu Z. Heredity of human growth hormone gene in transgenic carp (*Cyprinus carpio*, L.). *Chinese Journal of Biotechnology*. 1992; 8: 140–144.
- [42] Zhu Z. Generation of fast-growing transgenic fish: methods and mechanisms. In: Hew CL, Fletcher GL (Eds.). *Transgenic fish*. Singapore: World Publishing, 1992. p. 92–119.
- [43] Zhu Z. Collection of the technical materials of the National 863 High-tech Project of China, “Middle-scale trial of fast-growing transgenic common carp”. Wuhan, China: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences. 2000.
- [44] Cui Y, Hung SO, Zhu X. Effect of ration and body size on the energy budget of juvenile white surgeon. *Journal of Fish Biology*. 1996; 49: 863–876.
- [45] Fu C, Cui Y, Hung SO, Zhu Z. Growth and feed utilization by F4 human growth hormone transgenic carp fed diets with different protein levels. *J. Fish Biol.* 1998; 53: 115–129.
- [46] Fu C, Cui Y, Zhu Z. Whole-body amino acid patterns of F4 human growth hormone transgenic red carp (*Cyprinus carpio*) fed with different protein levels. *Aquaculture*. 2000; 189: 287–292.
- [47] Cho CY, Slinger S J. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. In: Halver JE, Tiews K. (Eds.). *Finfish Nutrition & Fish Feed Technology*, Vol. II. Berlin: Heenemann; 1979. p. 239–247.



- [48] Ogino C, Saito K. Protein nutrition in fish: I. The utilisation of dietary protein by young carp. *Bulletin of The Japanese Society of Scientific Fisheries*. 1970; 36: 250–254.
- [49] Ogino C, Chiou JY, Takeuchi T. Protein nutrition in fish: VI. Effects of dietary energy sources on the utilisation of proteins by rainbow trout and carp. *Bulletin of The Japanese Society of Scientific Fisheries*. 1976; 42: 213–218.
- [50] Takeuchi T, Watanabe T, Ogino C. Optimum ratio of dietary energy to protein for carp. *Bulletin of The Japanese Society of Scientific Fisheries*. 1979; 45: 983–987.
- [51] Mazid MA, Tanaka Y, Katayama T, Rahman MA, Simpson KL, Chichester CO. Growth response of *Tilapia zillii* fingerlings fed isocaloric diets with variable protein levels. *Aquaculture*. 1979; 18: 115–122.
- [52] De Silva SS, Gunasekera RM, Atapattu D. The dietary protein requirements of young tilapia and an evaluation of the least cost dietary protein levels. *Aquaculture*. 1989; 80: 271–284.
- [53] Inaba D, Ogino C, Takamastu T, Ueda T, Kurokawa K. Digestibility of dietary components in fishes: II. Digestibility of dietary protein and starch in rainbow trout. *Bulletin of The Japanese Society of Scientific Fisheries*. 1963; 29: 242–244.
- [54] Kitamikado M, Morishita T, Tachino S. Digestibility of dietary protein in rainbow trout: I. Effect of starch and oil contents in diets, and size of fish. *Bulletin of The Japanese Society of Scientific Fisheries*. 1964; 30: 50–54.
- [55] Page JW, Andrews JW. Interaction of dietary levels of protein and energy on channel catfish. *Journal of Nutrition*. 1973; 103: 1339–1346.
- [56] Smith BW, Lovell RT. Determination of apparent protein digestibility in feeds for channel catfish. *Transaction of The American Fisheries Society*. 1973; 102: 831–851.
- [57] Weatherley AH, Gill HS. Growth increase produced by bovine growth hormone in grass pickerel, *Esox americanus vermiculatus* (Le Sueur), and the underlying dynamics of muscle fiber growth. *Aquaculture*. 1987; 65: 55–65.
- [58] Agellon LB, Emery C, Jones JM, Davies SL, Dingle AD, Chen TT. Promotion of rapid growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by a recombinant fish growth hormone. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1988; 45: 146–151.
- [59] Higgs DA, Donaldson EM, Dye HM, McBride JR. A preliminary investigation of the effect of bovine growth hormone on growth and muscle composition of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *General and Comparative Endocrinology*. 1975; 27: 240–253.
- [60] Moav B, Hinitz Y, Groll Y, Rothbard S. Inheritance of recombinant carp b-actinrGH cDNA gene in transgenic carp. *Aquaculture*. 1995; 137: 179–185.
- [61] Liu Z, Moav B, Faras AJ, Guise KS, Kapuscinski AR, Hackett PB. Functional analysis of elements affecting expression of the b-actin gene of carp. *Mol. Cell. Biol.* 1990; 10: 3432–3440.
- [62] Wohlfarth GW, Moav R. Communal testing, a method of testing the growth of different genetic groups of common carp in earthen ponds. *Aquaculture*. 1985; 48: 143–157.
- [63] Wohlfarth G, Milstein A. Predicting correction factors for differences in initial weight among genetic groups of common carp in communal testing. *Aquaculture*. 1987; 60: 13–25.
- [64] Wohlfarth GW. Heterosis for growth rate in common carp. *Aquaculture*. 1993; 113: 31–46.
- [65] Fine M, Zilberg D, Cohen Z, Degani G, Moav B, Gertler A. The effect of dietary protein level, water temperature and growth hormone administration on growth and metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Comp. Biochem. Physiol.* 1996; 114: 35–42.
- [66] Schwarz FJ, Kirchgessner M. Amino acid composition of carp *Cyprinus carpio* L. with varying protein and energy supplies. *Aquaculture*. 1988; 72: 307–317.

## Revisión Literaria

- [67] Andrews JW, Stickney RR. Interaction of feeding rates and environmental temperature on growth, food conversion and body composition of channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 1972; 101: 94-99.
- [68] Moss DD, Scott DD. Dissolved-oxygen requirements of three species of fish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 1961; 90: 377-393.
- [69] Rexroad CE Jr, Mayo KM, Bolt DJ, Elsasser TH, Miller KF, Behringer RR, Palmiter RD, Rottman FM, Holtzman SH, Wagner TE and Pinkert CA. Production of transgenic pigs harbouring a rat phosphoenolpyruvate carboxykinase-bovine growth hormone fusion gene. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)*. 1990; 4 (1): 89-96.
- [70] Etherton TD, Wiggins JP, Chung CS, Evock CM, Rebhun JF, Walton PE. Stimulation of pig growth performance by porcine growth hormone and growth hormone releasing factor. *J. Anim. Sci.* 1986; 63: 1389-1399.
- [71] Sheridan MA, Plisetskaya EM, Bern HA, Gorbman A. 1987. Effects of somatostatin-25 and urotensin II on lipid and carbohydrate metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1987; 66: 4054-14.
- [72] Cowey CB, Tacon AG. Fish nutrition: Relevance to invertebrates. In: Pruder GD, Langoon CJ, Conklin DE (Eds.). *Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches*. 1983.
- [73] Gatlin DM. Whole-body amino acid composition and comparative aspects of amino acid nutrition of the gold fish: golden shiner and fathead minnow. *Aquaculture*. 1987; 60: 223-229.
- [74] Wilson JW, Poe WE. Relationship of whole body and egg essential amino acid patterns of amino acid requirement patterns in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1985; 80: 385-388.
- [75] Devlin RH, Swanson P, Clarke WC, Plisetskaya E, Dickhoff W, Moriyama S, Yesaki TY, Hew CL. Seawater adaptability and hormone levels in growth enhanced transgenic coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*. 2000; 191: 367-385.
- [76] Devlin RH. Transgenic salmonids. In: Houdebine LM (Ed.). *Transgenic animals: Generation and use*. Amsterdam, Netherlands: Harwood Academic Publishers: 1997. p. 105-117.
- [77] Devlin RH, Yesaki TY, Donaldson EM, Du SJ, Hew CL. Production of germline transgenic Pacific salmonids with dramatically increased growth performance. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1995; 52: 1376-1384.
- [78] Devlin RH. Sequence of sockeye salmon Type 1 and 2 growth hormone genes and the relationship of rainbow trout with Atlantic and Pacific salmon. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1993; 50: 1738-1748.
- [79] Devlin RH, Biagi CA, Yesaki TY. Growth, viability and genetic characteristics of GH transgenic coho salmon strains. *Aquaculture*. 2004; 236 (4): 607-632.
- [80] Devlin RH, Yesaki TY, Donaldson EM, Hew CL. Transmission and phenotypic effects of an antifreeze/GH gene construct in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*. 1995; 137: 161-170.
- [81] Devlin RH, Donaldson EM. Containment of genetically altered fish with emphasis on Salmonids. Singapore: World Scientific Press; 1992. p. 229-266.