

EDICIÓN GENÓMICA EN SOJA PARA MEJORAMIENTO DE CARACTERES NUTRICIONALES

González J.*^{1,2}, Fort S.*¹, Gallino J.P.*^{2,1}, Fleitas A.L.*¹, Bonnacarrère V.*², Vidal S.*¹

La soja es el principal cultivo producido en Uruguay y de los principales bienes exportados. Los objetivos de mejoramiento (particularmente del programa de mejoramiento de INIA) incluyen aspectos de calidad del grano, como aumento de proteína y disminución de factores antinutricionales. Entre estos factores antinutricionales se encuentran las lectinas, siendo la aglutinina (SBA: SoyBean Agglutinin), la principal lectina del grano de soja. Esta proteína se une específicamente a los carbohidratos galactosa y N-acetilgalactosamina de las células epiteliales del intestino generando hipertrofias e hiperplasias, además de afectaciones endócrinas e inmunológicas.

El objetivo de este trabajo es obtener genotipos de soja libres de SBA para ingresar al programa de mejoramiento genético. Para esto se buscará producir mutaciones de tipo knock-out en el gen que codifica SBA (LE1) mediante edición genómica utilizando el sistema CRISPR-Cas9. Para ello, se diseñaron moléculas de ARN guía, con homología para tres regiones específicas del gen LE1, y se clonaron en vectores de expresión de ARN bajo el control de los promotores U3 y U6 de Arabidopsis. La eficiencia de los ARN guías diseñados, para el reconocimiento del locus LE1, fue evaluada in vitro utilizando los complejos de Cas9/ARNg. Los módulos de expresión de ARNg fueron introducidos en un vector de transformación de plantas, conteniendo el gen que codifica Cas9 optimizado para su expresión en Arabidopsis. En paralelo, se diseñó un vector de biolística que contiene el cassette de expresión de Cas9 optimizada para soja y los ARNs guía con promotores pU6.6 de Medicago truncatula.

Con estas construcciones se transformaron plantas de soja mediante biolística, obteniéndose alrededor de 15 eventos. Las plantas transformadas serán genotipadas para la presencia de mutaciones mediante secuenciación del locus SBA. Se seleccionarán plantas de la generación T2, presentando mutaciones homocigotas en SBA, para segregar las construcciones génicas y obtener genotipos libres de transgenes.

*¹Laboratorio de Biología Molecular Vegetal (LBMV), Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay

*²Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Unidad de Biotecnología, Estación Experimental INIA Las Brujas. Canelones, Uruguay
jgonzalez@fcien.edu.uy