

# ATN-RF-18757-RG Edición génica para el Mejoramiento en Especies Vegetales y Animales Informe Técnico Final

**Sergio Feingold**

**2026**

FONTAGRO



Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un mecanismo único de cooperación técnica entre países de América Latina, el Caribe y España, que promueve la competitividad y la seguridad alimentaria. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por Sergio Feingold

Copyright © 2026 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:
**FONTAGRO**
Correo electrónico: fontagro@iica.int
www.fontagro.org



# Tabla de Contenidos

**ABSTRACT** ..... **5**

**RESUMEN** ..... **6**

**ANTECEDENTES** ..... **7**

**OBJETIVOS** ..... **9**

Objetivo general ..... 9

Objetivos específicos ..... 9

**METODOLOGÍA** ..... **9**

Componente 1: Incrementar la sanidad y calidad nutricional e industrial de la papa a través de la edición génica 9

Regenerar variedades de papa a partir de protoplastos. ..... 9

Edición génica de la isoforma genética de eIF como estrategia de resistencia a PVY ..... 10

Edición génica de papa para calidad nutricional e industrial ..... 10

Componente 2. Editar genéticamente soja para incrementar la calidad diferenciada para consumo por monogástricos ..... 11

Armonizar entre los grupos de investigación los diferentes protocolos disponibles de inducción de la maquinaria de edición génica en soja. ..... 11

Edición génica de soja para calidad nutricional. ..... 12

Componente 3. Generar animales con nuevas características agropecuarias a través de la edición génica. ..... 12

Diseños de los gRNA para el gen MSTN en bovinos y ovinos para producción de carne y para el gen LGB en bovinos para producción de leche. ..... 12

Protocolo de producción *in vitro* de embriones ovinos y publicaciones científicas. ..... 13

Obtención de bovinos editados y publicaciones científicas. ..... 13

Componente 4. Coordinar una plataforma pública-privada de cooperación para la generación de capacidades y la gestión de conocimiento de edición génica agropecuaria para América Latina. ..... 14

Talleres técnicos y de coordinación de la plataforma. ..... 14

Talleres de capacitación teórica-práctica en técnicas de edición génica ..... 14

Material de difusión y/o capacitación de las técnicas de edición génica. ..... 15

Webinars para difusión y discusión sobre la edición génica. ..... 15

**RESULTADOS** ..... **17**

Componente 1: Incrementar la sanidad y calidad nutricional e industrial de la papa a través de la edición génica ..... 17

Componente 2. Editar genéticamente soja para incrementar la calidad diferenciada para consumo por monogástricos ..... 18

Componente 3. Generar animales con nuevas características agropecuarias a través de la edición génica. ..... 19

Componente 4. Coordinar una plataforma pública-privada de cooperación para la generación de capacidades y la gestión de conocimiento de edición génica agropecuaria para América Latina. ..... 20

**MOVILIZACIÓN DE RECURSOS** ..... **21**

**INDICADORES TÉCNICOS** ..... **23**

**HALLAZGOS DESTACADOS** ..... **24**

**HISTORIAS EN EL CAMPO** ..... **25**

**DISCUSIÓN** ..... **26**

Componente 1: Incrementar la sanidad y calidad nutricional e industrial de la papa a través de la edición génica ..... 26

Componente 2. Editar genéticamente soja para incrementar la calidad diferenciada para consumo por monogástricos ..... 26

Componente 3. Generar animales con nuevas características agropecuarias a través de la edición génica. ..... 28

Componente 4. Coordinar una plataforma pública-privada de cooperación para la generación de capacidades y la gestión de conocimiento de edición génica agropecuaria para América Latina. ..... 29

**CONCLUSIONES** ..... **30**

**RECOMENDACIONES** ..... **33**

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS** ..... **35**

**ANEXOS** ..... **40**

Anexo 1. Artículos publicados en el proyecto. ..... 40

Anexo 2. Movilización de fondos: propuestas adjudicadas por diferentes donantes con base en los resultados obtenidos en el proyecto. ..... 41

Anexo 3. Propuestas presentadas a convocatorias que fueron suspendidas durante el proceso de adjudicación. ..... 42

Anexo 4. Propuestas presentadas con base al proyecto y en espera de resultados de adjudicación. ..... 43

**INSTITUCIONES PARTICIPANTES** ..... **44**

## ABSTRACT

The project successfully consolidated a regional platform for agricultural gene editing of broad scope and multidimensional nature, with tangible advances in potato, soybean, and animals. The diversity of objectives, organisms, and approaches involved, effectively equivalent to three distinct lines of development, was addressed in an integrated manner, combining methodological development, generation of edited materials, capacity building, and an active dissemination strategy.

In potato, robust and transferable protocols were established for isolation, transfection, regeneration, and gene editing, resulting in lines with improved PVY resistance, industrial quality, and reduced browning. Among these, the PIRU INTA line showed outstanding postharvest performance, maintaining industrial frying quality for up to four months under cold storage (4°C). Within this component, a particularly significant regulatory milestone was achieved: the registration of the Oli-INTA variety in Argentina, becoming the first gene-edited variety developed in the country to be officially registered in the National Register of Cultivars (RNC). In addition, this development was submitted to a consultation process before CTNBio in Brazil, where it was classified as non-GMO, reinforcing its potential for adoption and regional circulation. In soybean, transformation strategies were optimized and edited lines were generated with phenotypic and compositional improvements of productive and nutritional relevance. In animals, key methodological foundations were established for the editing of MSTN and LGB, confirming the technical feasibility of the approach, while also identifying biological and operational constraints for scaling.

A distinctive feature of the project was that, in several participating countries, these activities were initiated essentially from scratch, implying not only the execution of experiments but also the establishment of previously non-existent capacities, infrastructure, and operational frameworks. In this context, while not all developments fully achieved the initially planned products, enabling conditions were generated that significantly increase the likelihood of achieving them in the short term and, more broadly, open new opportunities for future developments.

Across all components, the project strengthened a network of cooperation among institutions from multiple countries, and implemented workshops, training activities, manuals, technical guides, webinars, and various dissemination products. Thus, experimental results were accompanied by a consistent strategy of training, knowledge management, and regional articulation, with clear potential to sustain and expand its impact in Latin America and the Caribbean. In this regard, the formulation and submission of three follow-up project proposals to the current FONTAGRO call constitutes direct evidence of the project's multiplier effect, reflecting not only the consolidation of capacities within participating teams, but also the continuity of work streams that extend beyond the original scope and actively project into new initiatives.



**Keywords:** Gene Editing, soybean, potato, bovine, ovine

## RESUMEN

El proyecto logró consolidar una plataforma regional de edición génica agropecuaria de alcance amplio y naturaleza multidimensional, con avances concretos en papa, soja y animales. La diversidad de objetivos, organismos y enfoques involucrados, en la práctica equivalentes a tres líneas de desarrollo diferenciadas, se abordó de manera integrada, combinando desarrollo metodológico, generación de materiales editados, fortalecimiento de capacidades y una activa estrategia de difusión.

En papa, se establecieron protocolos robustos y transferibles para aislamiento, transfección, regeneración y edición génica, obteniéndose líneas con mejoras en resistencia a PVY, calidad industrial y reducción del pardeamiento. Entre ellas, la línea PIRU INTA mostró un desempeño sobresaliente en poscosecha, manteniendo la calidad de fritado industrial hasta 4 meses bajo almacenamiento en frío (4°C). En este mismo componente, se alcanzó un hito regulatorio de particular relevancia: la inscripción de la variedad Oli-INTA en Argentina, constituyéndose en la primera variedad mejorada mediante edición génica desarrollada en el país en ser registrada en el RNC. Asimismo, este desarrollo fue sometido a una instancia de consulta ante la CTNBio de Brasil, donde fue clasificado como no OGM, lo que refuerza su potencial de adopción y circulación en la región. En soja, se optimizaron estrategias de transformación y se generaron líneas editadas con mejoras fenotípicas y composicionales de interés productivo y nutricional. En animales, se sentaron bases metodológicas relevantes para la edición de MSTN y LGB, confirmando la factibilidad técnica del enfoque, al tiempo que se identificaron limitaciones biológicas y operativas para su escalamiento.

Una característica distintiva del proyecto fue que, en varios de los países participantes, estas actividades se iniciaron prácticamente desde cero, lo que implicó no solo la ejecución de experimentos, sino también la construcción de capacidades, infraestructuras y marcos de trabajo previamente inexistentes. En este contexto, si bien no todos los desarrollos alcanzaron plenamente los productos inicialmente previstos, se generaron condiciones habilitantes que incrementan significativamente la probabilidad de obtenerlos en el corto plazo y, de manera más amplia, abren nuevas oportunidades para desarrollos futuros.

De manera transversal, el proyecto fortaleció una red de cooperación entre instituciones de múltiples países, implementó talleres, capacitaciones, manuales, cartillas, webinars y diversos productos de divulgación. Así, los resultados experimentales fueron acompañados por una estrategia consistente de formación, gestión del conocimiento y articulación regional, con proyección concreta para sostener y ampliar su impacto en América Latina y el Caribe. En este sentido, la formulación y presentación de tres proyectos derivados a la actual convocatoria de FONTAGRO constituye una evidencia directa del efecto multiplicador del proyecto, reflejando no solo la consolidación de capacidades en los equipos participantes, sino también la continuidad de líneas de trabajo que trascienden el alcance original y se proyectan activamente hacia nuevas iniciativas.



**Palabras clave:** edición génica, soja, papa, bovinos, ovinos

## ANTECEDENTES

La seguridad alimentaria mundial constituye uno de los desafíos más apremiantes del siglo XXI. Según la FAO (2017), para cubrir la demanda proyectada en los próximos decenios, la agricultura deberá incrementar su producción de alimentos, forraje y biocombustible en un 50% respecto a los niveles registrados hace una década. En el contexto particular de América Latina y el Caribe (ALC), esta misma organización sostiene que es posible optimizar los sistemas alimentarios para garantizar el acceso universal a los alimentos, siempre que dichos sistemas evolucionen hacia modelos agropecuarios sostenibles y adaptados al cambio climático (FAO, 2017). Frente a este escenario, el mejoramiento genético convencional de animales y plantas ha demostrado una capacidad significativa para incrementar el desempeño productivo de razas, variedades, híbridos y clones; no obstante, la magnitud de los retos presentes y futuros exige la integración de técnicas tradicionales y avanzadas para garantizar la producción de alimentos de calidad en cantidades suficientes, dentro de un marco de sostenibilidad ambiental a largo plazo.

En este contexto, la Edición Génica (EG) emerge como un avance tecnológico de singular relevancia. Esta técnica permite realizar modificaciones dirigidas en la secuencia de ADN de genes específicos, posibilitando alterar su expresión; es decir, silenciándolos o sobre-expresándolos, reemplazar alelos e introducir transgenes en sitios predeterminados del genoma, con menor costo y mayor accesibilidad respecto a otras herramientas biotecnológicas. Su aplicación resulta especialmente estratégica en cultivos de propagación clonal, tales como: la papa, el banano, la yuca, la caña de azúcar y la vid, donde permite introducir mejoras puntuales sobre genotipos élite sin alterar el resto del *background* genético, modificando sustancialmente los esquemas de mejoramiento tradicionales. Una ventaja regulatoria adicional de considerable importancia es que, en varios países de la región, los organismos mejorados mediante EG que no presenten inserciones de ADN foráneo no estarán sujetos a la normativa especial aplicable a los OGM, sino a las mismas regulaciones que rigen para los obtenidos por mejoramiento convencional. Así lo establece, por ejemplo, la Resolución 173/15 de Argentina, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de Argentina (2015), marco al que se han adherido Brasil con la Resolución Normativa N°16/2018 (Brasil. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, 2018), Chile, Paraguay Resolución MAG N°565/2019 (Paraguay. Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2019) y otros países de la región que avanzan en la misma dirección (USDA-FAS, 2019). Este avance regulatorio ha sido reconocido internacionalmente a través de una declaración presentada por Argentina ante la OMC, respaldada por más de una docena de naciones, lo que consolida un entorno propicio para el desarrollo y la comercialización de productos obtenidos mediante EG (IICA, 2019).

Los antecedentes científicos e institucionales en la aplicación de la EG en la región son sólidos y crecientes, tanto en el área animal como vegetal. En el sector pecuario, investigaciones con herramientas ZFN y TALEN han permitido generar bovinos con modificaciones en el gen de la β-lactoglobulina para reducir compuestos alergénicos en leche, insertar el gen de la lisozima humana (Hlyz) para combatir *Staphylococcus aureus*, introducir el gen SP110 para reducir la susceptibilidad a la tuberculosis bovina, y desactivar el gen de la miostatina para incrementar la masa muscular (INTA; EMBRAPA). En particular, el INTA Balcarce viene desarrollando desde 2009 un programa de producción de leche hipoalergénica mediante la técnica CRISPR, habiendo logrado el nacimiento de bovinos con *knockout* bi-alélico del gen de la β-lactoglobulina. En el campo vegetal, instituciones como el INTA (Argentina), INIA Chile e INIA Uruguay han iniciado trabajos de EG en papa, orientados a mejorar la calidad nutricional e industrial mediante la

reducción de pardeamientos oxidativos y del endulzamiento inducido por frío, en vid con resistencia a hongos, y en soja con reducción del contenido de ácido alfa linolénico, respectivamente. Asimismo, en el área fitopatológica, la EG aplicada sobre genes de susceptibilidad (genes S) abre una vía promisoria para generar resistencia a patógenos de alta incidencia económica como el Potato virus Y (PVY) en papa (Zaidi et al., 2018), uno de los patógenos más relevantes y reglamentados en la producción de semilla certificada en Chile y Argentina.

La importancia estratégica de los cultivos de soja y papa, que fueron priorizados en este proyecto, se basó en la evidencia de su peso económico y social en los países participantes. La soja (*Glycine max*) representa el 56% de la producción mundial de oleaginosas y es el principal cultivo de exportación de Argentina, Uruguay y Paraguay, siendo este último el cuarto exportador mundial con 6,30 millones de toneladas exportadas en 2020-2021 (CAPECO, 2021; INDEC, 2019; MGAP, 2019). Por su parte, la papa (*Solanum tuberosum* L.), de origen sudamericano, es el cultivo alimenticio no cereal más importante en la dieta mundial; en países como Ecuador, Colombia, Chile y Argentina constituye un pilar fundamental de la seguridad alimentaria y de la economía rural, sustentando a más de 110.000 familias productoras en Colombia (Fedepapa, 2019) y con superficies sembradas que alcanzan las 70.000 hectáreas en Argentina (Argentina. Ministerio de Desarrollo Productivo, 2020). A pesar del dinamismo investigativo descrito, la región carece aún de una iniciativa articulada que vincule los grupos de trabajo en EG y facilite la complementación de capacidades entre instituciones del Cono Sur y la región Andina. Es precisamente esta brecha la que el presente proyecto busca subsanar, integrando a Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Paraguay y Uruguay en una red colaborativa impulsada por el FONTAGRO desde 2019, en el marco de su fondo semilla para la edición génica en cultivos y ganadería para América Latina y el Caribe.

# OBJETIVOS

## Objetivo general

El objetivo del proyecto fue generar capacidades tecnológicas que permitieran la creación de nueva genética tanto en cultivos de alta relevancia para la región como en especies animales cuyos productos resultan clave para la seguridad alimentaria futura. Para ello, se propuso constituir una plataforma regional en red de edición génica, basada en la consolidación de las capacidades regionales de investigación e innovación en especies de valor productivo, así como en el fortalecimiento del desarrollo productivo, económico y social de la región.

## Objetivos específicos

1. Incrementar la sanidad y calidad nutricional e industrial de la papa a través de la edición génica.
2. Editar genéticamente la soja para incrementar la calidad nutricional.
3. Generar animales con nuevas características agropecuarias a través de la edición génica.
4. Coordinar una plataforma pública-privada de cooperación para la generación de capacidades y la gestión del conocimiento en edición génica agropecuaria para América Latina.

# METODOLOGÍA

## Componente 1: Incrementar la sanidad y calidad nutricional e industrial de la papa a través de la edición génica

### Regenerar variedades de papa a partir de protoplastos.

El aislamiento de protoplastos se realizó a partir de plántulas de papa (*Solanum tuberosum* L.) cultivadas *in vitro*, correspondientes a los cultivares Spunta y Atlantic. Se seleccionaron hojas jóvenes provenientes de plantas de 4 a 5 semanas de edad, las cuales fueron sometidas a un pretratamiento en condiciones de oscuridad y baja temperatura para favorecer la metabolización del almidón y reducir la fragilidad celular. Posteriormente, el material foliar fue fragmentado y sometido a digestión enzimática controlada utilizando soluciones específicas que permitieron la remoción de la pared celular. Los protoplastos liberados fueron purificados mediante filtración secuencial y centrifugación en gradiente de sacarosa, garantizando la recuperación de células intactas y metabólicamente activas.

Una vez aislados, los protoplastos fueron cuantificados y ajustados a una densidad celular definida para los ensayos de transfección. La introducción de la maquinaria de edición génica se llevó a cabo mediante transfección química mediada por polietilenglicol (PEG), utilizando tanto complejos ribonucleoproteicos (RNP) del sistema CRISPR/Cas9 como vectores plasmídicos, según el gen objetivo y el cultivar evaluado. Las condiciones de incubación, concentración de PEG y tiempos de exposición fueron optimizadas para maximizar la eficiencia de entrada del material génico y minimizar el daño celular. Finalizada la transfección, los protoplastos fueron lavados cuidadosamente y preparados para su cultivo posterior.

La regeneración de plantas completas se realizó mediante el cultivo de protoplastos transfectados embebidos en matrices de alginato de sodio, lo que permitió su inmovilización y división celular controlada. Los cultivos fueron mantenidos bajo condiciones ambientales reguladas, con cambios sucesivos de medios de cultivo diseñados para inducir la formación de callos, la organogénesis y el desarrollo de brotes y raíces. Los ápices regenerados fueron individualizados para asegurar la obtención de clones independientes, los cuales constituyeron el material final para la evaluación de eventos de edición génica.

## Edición génica de la isoforma genética de eIF como estrategia de resistencia a PVY

Se desarrolló una plataforma de edición génica basada en CRISPR/Cas9 para inducir deleciones dirigidas de gran extensión en los genes de susceptibilidad eIF4E1 y eIF(iso)4E de *S. tuberosum* L., con el propósito de generar materiales con potencial de resistencia mejorada. Para ello, se recuperaron del genoma de referencia DM las secuencias de los cuatro miembros de la familia eIF4E (eIF4E1, eIF4E2, eIF(iso)4E y nCBP) (Walter et al., 2019), y se diseñaron pares de gRNA mediante la plataforma Fruit Tree Genomics CRISPR Design (Acha et al., 2021; Olivares et al., 2021). Se seleccionaron guías con alta eficiencia *on-target* y bajo riesgo de efectos fuera de objetivo. En el caso de eIF4E1, el diseño estuvo orientado a generar una deleción aproximada de 1.803 pb que abarca los exones 1 a 3, mientras que para eIF(iso)4E se definió una región de deleción de aproximadamente 3.016 pb, correspondiente a los exones 1 a 4. Esta estrategia permitió establecer una base molecular sólida para intervenir, de forma precisa, dos genes clave asociados con la susceptibilidad del cultivo.

Los módulos duales de gRNA fueron ensamblados mediante clonación Golden Gate en los vectores replicónicos pVH-U y pVH-X, portadores de elementos derivados de geminivirus (LIR, SIR, Rep/RepA) que favorecen la replicación episomal en alto número de copias, además de un gen Cas9 bajo el promotor CaMV 35S y un reportero GFP para monitorear la expresión transitoria. La integridad de los constructos finales (pVH-St_eIF4E y pVH-St_eIF(iso)4E9) fue confirmada mediante PCR, digestiones de restricción y secuenciación Sanger (Macrogen, Seúl, Corea del Sur). Posteriormente, los vectores fueron introducidos en *Agrobacterium tumefaciens* cepa EHA105 en GV3101 utilizados para la agroinfiltración de explantes foliares procedentes de plantas in vitro de 4 a 6 semanas, cultivadas en medio Murashige & Skoog (1962) a 22 °C y bajo fotoperiodo 16 h/8 h. Tras una co-cultivación de 48–72 h en oscuridad, los explantes se transfirieron a medio de organogénesis con 20 mg $L^{-1}$ de higromicina, usando la fluorescencia GFP como marcador de actividad replicónica. Finalmente, el ADN genómico de brotes regenerados y explantes GFP-positivos fue analizado por PCR con cebadores flanqueantes de las regiones blanco, y las bandas representativas se secuenciaron por Sanger para caracterizar las configuraciones alélicas. Además, se evaluó por PCR la presencia residual de componentes del T-DNA con el fin de clasificar las líneas como editadas no transgénicas, y la resistencia funcional se examinó mediante inoculación mecánica.

### Edición génica de papa para calidad nutricional e industrial

Se empleó la tecnología CRISPR/Cas9 para inactivar dos genes clave relacionados con la calidad poscosecha de *S. tuberosum* L.: la invertasa vacuolar (*InvVac*), responsable del endulzamiento inducido por frío (CIS, *cold-induced sweetening*), y la polifenol oxidasa 2 (*PPO2*), implicada en el pardeamiento enzimático de tubérculos con daño mecánico. Los cultivares seleccionados fueron cv. Atlantic, ampliamente utilizado en la industria procesadora de papa frita tipo chip, y cv. Spunta, de uso común en el mercado fresco y de

procesamiento. La edición se realizó mediante la entrega de ribonucleoproteínas (RNP) conformadas por la proteína Cas9 y los ARN guía correspondientes. Los constructos fueron diseñados para generar disrupciones funcionales en los loci objetivo de ambos cultivares, con el fin de obtener líneas editadas con fenotipo de pérdida de función para uno o ambos genes simultáneamente (Massa et al., 2025).

La confirmación de los eventos de edición en las líneas regeneradas se realizó mediante secuenciación de nueva generación (NGS, *Next Generation Sequencing*), que permitió identificar mutaciones bialélicas en los genes InvVac y PPO2 y descartar la presencia de ADN transgénico residual. La calidad poscosecha de las líneas editadas fue evaluada cuantitativamente a través del contenido de azúcares reductores y mediante ensayos de color en papas fritas, utilizando una escala de puntuación colorimétrica de 1 a 9 (siendo 9 el color más claro y deseable industrialmente). Las evaluaciones se llevaron a cabo tras períodos de almacenamiento de hasta 120 días a 4 °C, condición estándar de refrigeración comercial. El pardeamiento enzimático se cuantificó en las líneas de cv. Spunta expresando los resultados como porcentaje de reducción respecto al control no editado. Adicionalmente, las líneas más prometedoras fueron evaluadas en ensayos de campo para determinar su desempeño agronómico, incluyendo el rendimiento de tubérculos por planta.

## Componente 2. Editar genéticamente soja para incrementar la calidad diferenciada para consumo por monogástricos

### Armonizar entre los grupos de investigación los diferentes protocolos disponibles de inducción de la maquinaria de edición génica en soja.

Se realizó la evaluación comparativa de cuatro estrategias para la introducción del sistema CRISPR/Cas9 en células de soja (*Glycine max* L.), con el objetivo de generar mutantes *knockout* en genes de interés agronómico y nutricional. La primera estrategia consistió en la transformación de protoplastos mediante polietilenglicol (PEG), siguiendo los protocolos adaptados de Yoo et al. (2007) y Sun et al. (2015), que permiten la introducción controlada de ribonucleoproteínas (RNP) o transcripciones *in vitro* (TIV) en condiciones definidas, a partir de semillas inmaduras de 2 mm. La segunda estrategia empleó biolística para la transformación de embriones somáticos, utilizando microcarriers de oro de 0,6 µm recubiertos con ADN o RNP, bombardeados con una presión de helio superior a 1.100 psi mediante discos de ruptura, siguiendo el protocolo adaptado de Buchheim et al. (1989), Samoylov et al. (1998) y Wright et al. (1991). La tercera estrategia se basó en la transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* cepa EHA105, empleando explantes de media semilla (cotiledones con eje embrionario herido) co-cultivados con la bacteria a una $DO_{600}$=0,7 en medio CCM durante 7 días, seguido de regeneración en medios de inducción de brotes (MIB1 y MIB2), con y sin agente selectivo, y elongación en medio MELO con brotes de ~3 cm, según un protocolo adaptado de Li et al. (2017).

Finalmente, la cuarta estrategia consistió en la inyección directa de ADN en el ovario floral (*ovary-drip transformation*), utilizando una solución de plásmido (pUB-GUS:GFP) a 100 ng/µL con 8 % de sacarosa y 0,05 % de Silwet L-77, aplicada en flores 6–8 horas post-polinización, protocolo adaptado de Liu et al. (2009). Para la biolística, el protocolo de obtención del material vegetal comprende cinco etapas secuenciales: i) inducción de embriogénesis somática en medio MSD40 (pH 7, 4.414 mg de M0231 Duchefa + 200 mL solución 2,4-D + 30 g sacarosa + 2 g gelrite) durante seis semanas a 24 °C con intensidad lumínica

de 5–10 µE $m^{-2}$ $s^{-1}$; ii) mantenimiento en medio MSD20 mediante subcultivos máximos cada cuatro semanas, seleccionando masas globulares compactas de ~1 mm de diámetro; iii) conversión en medio líquido SHAM a 120 rpm durante cinco semanas; iv) deshidratación en placas de Petri selladas por 7 días; y v) germinación en medio MSD0 con fotoperiodo de 23 h luz. La selección de embriones transformados mediante biolística se realizó en medio FNL + Timentin 500 mg/L durante una semana de recuperación, seguida de ocho semanas de selección con Higromicina 20 mg/L con cambios semanales de medio. Paralelamente, en el laboratorio IGL de IGEAF GV a IABIMO-INTA se empleó un protocolo adaptado de Paz et al. (2006) con modificaciones de Kanamori et al. (2017), donde las semillas fueron desinfectadas con gas cloro (3,5 mL HCl 12N + 100 mL NaClO al 96 %) durante 16 horas, germinadas en Medio de Germinación (MG, Gamborg B5) e infectadas con *A. tumefaciens* portando las construcciones pZero-SBA y MDC123-STS, clonadas a partir de Puc57SBA y puc57STS mediante digestión con HindIII, con lesión del meristemo apical en medio MCC líquido durante 20 minutos, seguida de co-cultivo sólido durante 7 días a 25 °C bajo fotoperiodo de 16h/8h (Paz et al., 2006; Kanamori et al., 2017).

### Edición génica de soja para calidad nutricional.

Se aplicó la tecnología CRISPR/Cas9 para la edición génica de *Glycine max*, orientada a mejorar la calidad nutricional del grano mediante la inactivación de genes vinculados a factores antinutricionales y la regulación del tamaño del grano. Para ello, se diseñaron sgRNAs específicos para los genes GmBS1, SBA, STS, RS2 y genes de β-conglicinina, los cuales fueron clonados en vectores binarios y verificados por secuenciación. La actividad de los complejos de edición se evaluó tanto *in vitro* como *in vivo* mediante digestión de amplicones, electroforesis y transformación transitoria de cotiledones para obtener *hairy roots*. Además, se compararon dos protocolos de transformación mediada por *A. tumefaciens* y se aplicó transformación biolística en embriones somáticos del cultivar Jack, seguida de selección en medios con higromicina. Los eventos transformados fueron genotipados mediante PCR, NGS y PCR digital, y la línea editada BS1-5 fue evaluada fenotípica, composicional y molecularmente mediante análisis de caracteres agronómicos, contenido de proteína, perfil de aminoácidos, perfil de ácidos grasos y expresión génica por RT-qPCR.

## Componente 3. Generar animales con nuevas características agropecuarias a través de la edición génica.

### Diseños de los gRNA para el gen MSTN en bovinos y ovinos para producción de carne y para el gen LGB en bovinos para producción de leche.

La metodología se basó en un enfoque bioinformático para el diseño racional de ARN guías (sgRNA) dirigidos al gen de la miostatina (MSTN) en bovinos y ovinos. Inicialmente, se recuperaron las secuencias de referencia del gen MSTN de bases de datos genómicas oficiales y se realizó un alineamiento múltiple para evaluar la conservación de la secuencia y la presencia de polimorfismos de nucleótido simple (SNPs). Con base en este análisis, se seleccionó el exón 1 como región objetivo, priorizando áreas altamente conservadas y cercanas al extremo 5', con el fin de maximizar la probabilidad de generar mutaciones que alteren el marco de lectura y resulten en la pérdida de función del gen.

Posteriormente, se utilizaron herramientas especializadas para el diseño de sgRNA compatibles con la nucleasa Cas9 de *Streptococcus pyogenes*, considerando criterios de especificidad, presencia del motivo PAM y minimización de posibles sitios de corte inespecíficos (*off-targets*). Los sgRNA candidatos fueron evaluados en función de su puntuación, localización genómica de los off-targets potenciales y número y posición de *mismatches*. Adicionalmente, se realizó un análisis de las estructuras secundarias de los sgRNA mediante modelado computacional, priorizando la integridad de las regiones estructurales críticas para el reconocimiento por Cas9. Este proceso permitió seleccionar un conjunto final de sgRNA con alto potencial de eficiencia y especificidad para su uso en futuras aplicaciones de edición génica en bovinos y ovinos.

## Protocolo de producción *in vitro* de embriones ovinos y publicaciones científicas.

La metodología se basó en protocolos integrados de producción in vitro de embriones bovinos y ovinos orientados a la edición génica del gen MSTN mediante CRISPR/Cas9. En bovinos, los complejos cúmulus-ovocito se recuperaron por aspiración folicular de ovarios obtenidos en frigoríficos locales y se seleccionaron según criterios morfológicos de calidad; posteriormente, los ovocitos fueron sometidos a maduración in vitro en medio TCM-199 suplementado, y luego a fecundación in vitro con espermatozoides incubados en medio específico, comparando tres tiempos de co-incubación. Tras la fecundación, los cigotos fueron denudados, cultivados bajo condiciones controladas y evaluados mediante las tasas de clivaje y formación de blastocistos.

En un segundo ensayo, se incorporó la microinyección del complejo ribonucleoproteico CRISPR/Cas9 en cigotos a las 6 horas post-FIV, incluyendo grupos control, buffer y CRISPR, y los blastocistos obtenidos fueron analizados por secuenciación Sanger para determinar la edición génica. En ovinos, el protocolo comprendió la obtención de ovocitos tanto de ovarios de frigorífico como de donantes vivas mediante laparoscopía, seguida de maduración *in vitro*, fecundación in vitro con espermatozoides seleccionados por *swim-up* y cultivo embrionario en condiciones controladas hasta la evaluación de clivaje y blastocistos. Adicionalmente, para el programa de transferencia embrionaria se realizaron transferencias a receptoras sincronizadas mediante un protocolo hormonal de 17 días, con seguimiento posterior de la gestación por ultrasonografía y confirmación por palpación rectal.

## Obtención de bovinos editados y publicaciones científicas.

Se utilizaron las herramientas BLASTN, con el fin de identificar regiones conservadas en el exón 1 del gen LGB y examinar la distribución de SNPs en las razas objetivo; Breaking-Cas, para seleccionar candidatos con puntajes óptimos y mínima probabilidad de efectos fuera de objetivo en el genoma bovino; y RNAfold, para verificar la estabilidad de las estructuras secundarias esenciales del sgRNA, como el dúplex *repeat:anti-repeat* y el *stem loop* 1 (Zheng et al., 2017; Kocak et al., 2019; Wong et al., 2015). Como resultado, se obtuvo un conjunto de guías diseñadas y validadas computacionalmente, listas para su síntesis por transcripción *in vitro* y su uso posterior en microinyección, aunque la validación funcional en cigotos de razas lecheras no pudo completarse dentro del plazo previsto (Lauro et al., 2025).

El protocolo experimental planificado para las siguientes etapas contemplaba la obtención de ovocitos de vacas Holstein y Holando-Argentino mediante aspiración folicular transvaginal (OPU) o recuperación de ovarios post-faena en frigoríficos especializados, seguida de los procesos de maduración, fecundación y cultivo *in vitro* bajo condiciones ajustadas a las particularidades fisiológicas de estas razas, caracterizadas

por una mayor sensibilidad al estrés térmico, diferencias en la composición lipídica citoplasmática y una respuesta hormonal más variable. En este contexto, se consideró especialmente el ajuste del tiempo de fecundación *in vitro* a 6 horas, conforme a lo validado previamente en bovinos de carne (Lauro et al., 2025; Lamas-Toranzo et al., 2019).

La microinyección del complejo Cas9-sgRNA en cigotos lecheros requería, además, personal altamente entrenado en el manejo del microinyector, el microscopio invertido y la introducción precisa del complejo sin comprometer la viabilidad embrionaria, con un estándar internacional de al menos seis meses de práctica supervisada. A ello se sumaba un programa de transferencia embrionaria con sincronización de receptoras, diagnóstico temprano de gestación por ultrasonografía transrectal entre los días 28 y 35, confirmación por palpación rectal entre los días 77 y 90, y cuidados neonatales específicos durante el primer mes de vida. Finalmente, la evaluación fenotípica prevista buscaba caracterizar la producción y la composición de la leche en animales homocigotos *knockout* para LGB, un proceso de largo plazo que, desde el inicio de los ensayos de microinyección hasta la primera lactación evaluable, demanda aproximadamente 36 a 42 meses (Lonergan & Fair, 2016; Rizos et al., 2002).

## Componente 4. Coordinar una plataforma pública-privada de cooperación para la generación de capacidades y la gestión de conocimiento de edición génica agropecuaria para América Latina.

### Talleres técnicos y de coordinación de la plataforma.

Como parte de la articulación, seguimiento técnico y fortalecimiento de capacidades de la plataforma del proyecto, se desarrolló un esquema continuo de talleres y reuniones anuales que integró a los equipos de investigación de las instituciones participantes. En estos espacios, realizados en modalidad virtual y presencial según las necesidades operativas y las posibilidades de interacción entre los socios, cada grupo presentó de manera sistemática los avances alcanzados en sus actividades, lo que permitió dar seguimiento al cumplimiento de metas, contrastar resultados parciales y mantener una visión compartida del progreso del proyecto.

La dinámica de trabajo incluyó sesiones de discusión técnica orientadas a identificar dificultades surgidas durante la ejecución, analizar sus posibles causas y construir soluciones de manera colaborativa, así como definir los siguientes pasos para cada componente. Estos encuentros también funcionaron como un mecanismo de apoyo interinstitucional, ya que facilitaron el intercambio de experiencias, conocimientos, protocolos y recomendaciones entre los equipos, fortaleciendo la coordinación regional y contribuyendo al cumplimiento de los objetivos planteados desde una lógica de cooperación, aprendizaje conjunto y mejora continua.

### Talleres de capacitación teórica-práctica en técnicas de edición génica

Los talleres de capacitación del proyecto se desarrollaron de manera teórica-práctica con un enfoque en las técnicas de edición génica, colaborativo y orientado a la transferencia efectiva de conocimiento entre instituciones. A través de visitas técnicas y entrenamientos presenciales en laboratorios de referencia de Argentina, Brasil, Uruguay y otros países asociados, los participantes se integraron a entornos reales de trabajo en edición génica, ejecutando directamente protocolos validados para papa, soja y bovinos bajo la

guía de investigadores especializados. La formación se estructuró sobre el principio de “aprender haciendo”, combinando contenidos teóricos y prácticos en torno a cuatro ejes transversales: fundamentos del sistema CRISPR/Cas9, cultivo in vitro, metodologías de transformación y análisis molecular.

En este marco, se transfirieron protocolos estratégicos como el aislamiento, transfección y regeneración de protoplastos en papa; la transformación mediada por *A. tumefaciens* en soja; y técnicas de producción *in vitro* de embriones bovinos, microinyección de cigotos, electroporación, biopsias embrionarias y criopreservación en el componente animal. Además de fortalecer habilidades experimentales, estas capacitaciones promovieron una comprensión profunda de los fundamentos biológicos y metodológicos de cada procedimiento, favoreciendo la autonomía científica regional con la capacidad de adaptar y replicar estas herramientas en los laboratorios de los países participantes.

El proceso formativo se enriqueció también con espacios sobre regulación de las Nuevas Técnicas de Mejoramiento y percepción pública de estas tecnologías, así como con instancias emblemáticas de vinculación científica internacional que consolidaron redes de cooperación y abrieron nuevas oportunidades de colaboración futura.

## Material de difusión y/o capacitación de las técnicas de edición génica.

Como parte de la estrategia de fortalecimiento de capacidades del proyecto, se elaboraron tres manuales de capacitación, construidos a partir de los resultados experimentales y de los protocolos validados en las distintas líneas de trabajo. Estos manuales fueron concebidos no solo como documentos de consulta técnica, sino como herramientas de transferencia de conocimiento orientadas a facilitar la apropiación y reproducción de las metodologías por parte de investigadores de la región.

La elaboración del material de difusión partió de la sistematización de los procedimientos que demostraron mayor solidez, reproducibilidad y aplicabilidad en las condiciones de ejecución del proyecto, incorporando de manera ordenada los fundamentos conceptuales, los pasos metodológicos, los insumos requeridos, los puntos críticos de control, las recomendaciones prácticas y las consideraciones para la interpretación de resultados.

Asimismo, la redacción de los contenidos priorizó un enfoque claro, didáctico y técnicamente riguroso, con el propósito de hacer accesibles protocolos complejos sin perder precisión científica. De esta manera, los manuales se constituyeron en productos estratégicos para la capacitación regional, al estandarizar conocimientos, reducir brechas técnicas entre instituciones y fortalecer la capacidad de los equipos para adaptar, implementar y escalar las metodologías desarrolladas en el marco del proyecto.

## Webinars para difusión y discusión sobre la edición génica.

Como parte de la estrategia de comunicación y difusión de resultados, el proyecto implementó webinars concebidos como un mecanismo ágil, participativo y de amplio alcance para socializar los avances, aprendizajes y productos generados en sus distintas líneas de trabajo. Estos seminarios virtuales fueron planificados como parte del proyecto y también se participó en webinars institucionales para difundir sus resultados.

Se manejó una estructura que combinó presentaciones expositivas de los equipos de investigación, espacios de contextualización sobre la importancia de los resultados obtenidos y sesiones de intercambio con los participantes para resolver preguntas y recoger observaciones. La metodología priorizó el uso de un lenguaje técnico accesible, apoyado en recursos visuales, casos concretos, datos experimentales y ejemplos de aplicación, con el fin de acercar los desarrollos del proyecto tanto a públicos especializados como a otros actores vinculados al sector científico, productivo e institucional.

Finalmente, los webinars permitieron amplificar el alcance regional de la difusión, fortalecer la visibilidad de las instituciones participantes, promover el diálogo entre investigadores y actores clave y consolidar un espacio de transferencia de conocimiento que complementó las actividades presenciales de capacitación y articulación técnica del proyecto.

# RESULTADOS

## Componente 1: Incrementar la sanidad y calidad nutricional e industrial de la papa a través de la edición génica

Como resultado se desarrollaron dos protocolos para la aplicación de la tecnología CRISPR/Cas9 en papa (*S. tuberosum* L.). El primero correspondió al procedimiento estandarizado para el aislamiento, la transfección y la regeneración de protoplastos, utilizando tanto complejos ribonucleoproteicos como vectores CRISPR/Cas9. Este protocolo abarcó desde la preparación del material vegetal y la digestión enzimática de tejidos foliares hasta la purificación, cuantificación y transfección de protoplastos, seguida de su encapsulación, inducción de división celular, formación de callos y regeneración de brotes y raíces en medios de cultivo in vitro específicos. Mostró ser apto para extraer protoplastos de plántulas de los cultivares Spunta y Atlantic, realizar transfecciones en cv. Spunta dirigidas a los genes de polifenol oxidasa e invertasa vacuolar, y regenerar plántulas completas a partir de protoplastos transfectados. El segundo protocolo describió los procedimientos experimentales para la edición del genoma de papa, incluyendo la selección de genes blanco, el diseño de sgRNA, un sistema de clonación basado en Golden Gate para obtener un vector binario sgRNA/Cas9, el ensamblaje optimizado de complejos RNP y la identificación de líneas editadas. En conjunto, ambos protocolos demostraron ser metodologías robustas, reproducibles y transferibles para el análisis funcional de genes y el mejoramiento de cultivares.

En el eje de sanidad, el análisis del genoma de referencia de *S. tuberosum* permitió identificar cuatro miembros de la familia eIF4E y, con base en su estructura y en la evidencia funcional disponible, seleccionar a eIF4E1 y eIF(iso)4E como genes blanco prioritarios para la resistencia a PVY. Los módulos duales de gRNA diseñados lograron las deleciones esperadas de ~1.803 pb en eIF4E1 y ~3.016 pb en eIF(iso)4E, confirmadas por digestión de restricción y secuenciación Sanger. La agroinfiltración de explantes foliares permitió recuperar 50 líneas regeneradas en cv. Patagonia-INIA y 31 líneas en cv. Désirée, mientras que la fluorescencia GFP confirmó la entrega eficiente del T-DNA y la replicación activa de los constructos entre los 5 y 7 días post-infección. La regeneración mostró diferencias entre cultivares, requiriendo Patagonia-INIA entre 1 y 5 meses y Désirée entre 1 y 2 meses. La validación molecular por PCR evidenció líneas editadas con grandes deleciones y patrones quiméricos, y un subconjunto de plantas no mostró amplificación para marcadores de T-DNA, confirmando la obtención de materiales editados libres de integración transgénica estable. En los ensayos de desafío con PVY, la línea De#7 de cv. Désirée editada en eIF4E1 permaneció negativa por RT-PCR en todos los muestreos, mientras que en cv. Patagonia-INIA editada en eIF(iso)4E tres líneas permanecieron negativas y las restantes presentaron infección parcial o detección retardada del virus.

En el eje de calidad industrial poscosecha, la aplicación de CRISPR/Cas9 mediante ribonucleoproteínas permitió obtener líneas con mutaciones confirmadas en los genes InvVac y PPO2 en los cultivares Atlantic y Spunta. En cv. Atlantic, la línea 6A, denominada comercialmente PIRU INTA, presentó una eliminación completa de la función del gen InvVac, sin evidencia de integración de ADN exógeno, lo que la posiciona como una planta editada no transgénica. En cv. Spunta, las líneas E03-3 y E04-5B exhibieron ediciones simultáneas en InvVac y PPO2, constituyendo los primeros eventos de edición múltiple en este cultivar. PIRU INTA mostró un desempeño sobresaliente en los ensayos de calidad poscosecha, manteniendo bajos niveles de azúcares reductores y una coloración clara en papas fritas tras 120 días de almacenamiento a 4°C, con un puntaje colorimétrico de 8,5 sobre 9 luego de 90 días de refrigeración; en contraste, el cultivar

Atlantic no editado presentó oscurecimiento severo a los 15 días. No obstante, la evaluación agronómica en campo mostró que PIRU INTA tuvo un rendimiento inferior al del cv. Atlantic convencional, que dependiendo de las localidades y su productividad potencial varió entre un 13,7% y un 40%. Esta penalidad en el rendimiento se compensa en sitios de alta productividad (menor penalidad y mayor rendimiento relativo) lo que sumado a la distancia a las plantas procesadoras de materia prima genera una ventaja productiva, logística y de calidad que justifica la adopción de las variedades mejoradas por edición. Asimismo, se evita la utilización de compuestos químicos que previenen la brotación de los tubérculos, pero condicionan el valor nutricional del producto. La consigna es: "Mayor calidad por genética, no por químicos".

## Componente 2. Editar genéticamente soja para incrementar la calidad diferenciada para consumo por monogástricos

Como resultado del componente, se generaron avances concretos en la edición génica de soja orientada a mejorar atributos de calidad diferenciada. En el marco del proyecto se obtuvieron construcciones para el *knockout* simultáneo de los genes CV1 y CV2, asociados a la proteína de vesiculación de cloroplastos, así como plantas transgénicas *knockout* en los genes BIG SEED (BS), en las que se observaron semillas de mayor tamaño y mejor calidad nutricional.

De manera complementaria, se logró la construcción para el *knockout* del gen SBA1, correspondiente a la aglutinina de soja, y se transformaron embriones somáticos. En paralelo, el protocolo de biolística optimizado demostró ser funcional para la entrega de RNP y TIV de CRISPR/Cas9 en embriones somáticos de soja, permitiendo edición libre de ADN exógeno, mientras que la técnica de transformación por goteo en ovario confirmó la expresión transitoria de transgenes introducidos a través de la detección de actividad GUS y señal GFP.

Asimismo, en transformación genética, el protocolo de media semilla mostró desempeños superiores al de nodo cotiledonario, con porcentajes de regeneración de 74 % en variedad 1, 72,6 % en la variedad 35, y de 71 % y 69 % en las variedades CA7 y CA3, respectivamente. La eficiencia de transformación fue dependiente del genotipo, alcanzando 5,1 % en variedad 1, entre 0,24 % y 0,45 %, y la eficiencia promedio de edición en plantas de variedad 1 transformadas con vectores CRISPR/Cas9 fue de 80 %. Con la construcción triple SBA+STS+RS2 y selección se obtuvieron plantas CAS9-positivas en variedad 1, variedad CA3 y variedad CA7, las cuales al cierre del informe se encontraban en generación T1 próximas a cosecha.

En la edición dirigida al gen GmBS1, los tres gRNA diseñados presentaron eficiencias predichas entre 47,97% y 58,82%, sin sitios off-target detectados en regiones codificantes. La transformación biolística de embriones somáticos del cultivar Jack produjo 22 eventos resistentes a higromicina, de los cuales 8 fueron confirmados como CAS9-positivos y 4 regeneraron a planta completa. Mediante NGS y dPCR se identificaron dos líneas con mutaciones en los sitios blanco: BS1-5, con una inserción de 1 pb en el exón 2 y una deleción de 5 pb en el exón 8, y BS1-14, con dos deleciones en el exón 2. En la generación E2, la línea BS1-5 segregó a homocigosis para la inserción del exón 2 y permaneció heterocigota para la deleción del exón 8, sin detectarse mutaciones en los sitios *off-target* evaluados.

Desde el punto de vista fenotípico y composicional, la línea BS1-5 mostró incrementos significativos en área foliar, longitud media de vainas y peso de 100 semillas respecto del control WT, sin diferencias en

número de vainas ni de semillas por planta. También presentó un aumento significativo en el contenido de proteína total, sin cambios en el contenido total de aceite, junto con incrementos significativos en siete aminoácidos y un perfil lipídico más favorable, caracterizado por mayor ácido oleico, menor ácido linoleico y un mayor cociente MUFA/PUFA. Finalmente, el análisis de expresión por RT-qPCR mostró reducción de los transcritos de BS1 en E1, ausencia de amplificación en E2 y E3, y un incremento progresivo de BS2 que en E3 alcanzó niveles cercanos al doble del control WT, evidenciando una respuesta compensatoria.

## Componente 3. Generar animales con nuevas características agropecuarias a través de la edición génica.

Se diseñaron y validaron computacionalmente sgRNAs específicos para la edición del gen MSTN en bovinos y ovinos, utilizando como referencia los ensamblajes genómicos ARS-UCD1.3 y ARS-UI_Ramb_v2.0, respectivamente. A partir de alineamientos realizados con BLASTN, se recuperaron 18 secuencias bovinas y 67 secuencias ovinas correspondientes al exón 1, lo que permitió analizar la distribución de polimorfismos y seleccionar regiones de alta conservación intraespecífica para el diseño de las guías. Con base en esta información, se priorizó el exón 1 como región blanco, con el propósito de inducir alteraciones del marco de lectura cerca del extremo 5' de la secuencia codificante y aumentar así la probabilidad de pérdida de función del gen. El diseño se completó con el software Breaking Cas, considerando compatibilidad con Cas9 de *Streptococcus pyogenes*, evaluación de posibles sitios off-target con hasta tres *mismatches* y análisis estructural de los sgRNAs mediante RNAfold, priorizando aquellos con mayor integridad estructural y menor probabilidad de interacciones intramoleculares que afectaran su eficiencia.

En bovinos, la comparación de tres tiempos de fecundación *in vitro* mostró que la reducción del tiempo de FIV a 6 horas no comprometió el rendimiento embrionario, ya que no se observaron diferencias estadísticamente significativas ni en las tasas de clivaje ni en la producción de blastocistos. Los porcentajes promedio de clivaje fueron 81,5 ± 9,8 % en el control de 24 h, 86,5 ± 8,4 % en el grupo de 8 h y 84,5 ± 5,0 % en el grupo de 6 h, mientras que las tasas de blastocistos al día 8 fueron 19,3 ± 5,2 %, 18,4 ± 4,7 % y 16,2 ± 5,3 %, respectivamente. En el segundo ensayo, la microinyección del complejo CRISPR/Cas9 en cigotos bovinos denudados a las 6 h post-FIV redujo las tasas de clivaje y de desarrollo a blastocisto en comparación con los controles, pero aun así permitió confirmar edición génica en 1 de 9 embriones secuenciados (11,1 %), demostrando la factibilidad del protocolo integrado. Posteriormente, en el ensayo de transferencia embrionaria, las 50 transferencias realizadas a receptoras sincronizadas dieron lugar a 4 gestaciones iniciales confirmadas por ultrasonografía (8 %), aunque ninguna llegó a término, registrándose dos pérdidas tempranas y dos tardías.

Para la especie ovina, se desarrolló y validó en condiciones de laboratorio un protocolo completo de producción in vitro, estableciendo condiciones reproducibles para la obtención de complejos cúmulus-ovocito por aspiración folicular de ovarios de frigorífico y por LOPU, así como para la maduración, fecundación y cultivo embrionario hasta blastocisto. Los embriones obtenidos pudieron destinarse a transferencia, análisis de edición génica o vitrificación, aunque la generación de ovinos editados en MSTN no pudo concretarse debido al cierre del frigorífico de Ayacucho, que era la principal fuente de ovarios, y a la desvinculación de personal especializado en edición génica y clonación. En paralelo, para la Actividad 3.3, el único resultado alcanzado fue el diseño y validación computacional de sgRNAs específicos para el gen LGB en las razas Holstein y Holando-Argentino, quedando listos para síntesis in vitro y uso experimental, aunque sin avanzar a la fase de validación funcional. La no ejecución de las etapas

posteriores de producción in vitro, microinyección, transferencia embrionaria y seguimiento fetal respondió a la combinación de limitaciones técnicas, pérdida de capacidad operativa y restricciones biológicas y temporales que impidieron escalar el proceso dentro del cronograma del proyecto.

## Componente 4. Coordinar una plataforma pública-privada de cooperación para la generación de capacidades y la gestión de conocimiento de edición génica agropecuaria para América Latina.

Se desarrollaron cuatro talleres de coordinación y avance, enfocados al seguimiento técnico y administrativo del proyecto. En estos talleres se discutieron la instalación de capacidades, el ajuste de protocolos y la articulación entre instituciones, la generación de resultados más sólidos, validados y con proyección regulatoria y de aplicación en campo. A lo largo de estos encuentros se observaron no solo el progreso concreto alcanzado en las líneas de edición génica en papa, soja y animales, sino también el fortalecimiento sostenido de la cooperación regional, el intercambio de conocimientos y la formación de capacidades entre los equipos participantes, aspectos que fueron fundamentales para sostener el avance del proyecto de manera integrada.

De igual manera, las memorias elaboradas muestran con transparencia los principales desafíos enfrentados durante la ejecución, entre ellos limitaciones técnicas, dificultades en los procesos de transformación, restricciones logísticas y aspectos vinculados con la ejecución presupuestaria. Sin embargo, también ponen en evidencia la capacidad del consorcio para responder de manera oportuna a estos retos, adaptando metodologías, fortaleciendo la comunicación interna e incorporando nuevas alianzas estratégicas. En conjunto, estos resultados reflejan la consolidación de una red de trabajo más madura, colaborativa y orientada al logro de resultados, con mejores condiciones para sostener y ampliar los impactos del proyecto en el mediano y largo plazo.

Adicionalmente, se implementó una estrategia integral de comunicación y divulgación que articuló canales formales e informales para ampliar el alcance e impacto de los avances generados. En el ámbito académico, esta estrategia se expresó en publicaciones en revistas indexadas internacionales y en presentaciones en congresos de alto nivel, donde se documentaron resultados concretos en edición génica aplicada a papa y ganadería bovina. De manera complementaria, la participación en simposios, webinarios y plataformas digitales de amplia difusión, incluida la página web de FONTAGRO y medios de divulgación agropecuaria. Se elaboraron once productos de divulgación, entre artículos científicos, presentaciones en seminarios y simposios, y publicaciones en revistas de divulgación pública, lo que evidencia un esfuerzo sostenido por transformar resultados técnicos en contenidos accesibles, útiles y de alto alcance.

El componente de capacitación del proyecto logró consolidar un proceso formativo amplio y progresivo, orientado a la transferencia efectiva de capacidades en edición génica vegetal y animal. En el cultivo de papa se desarrollaron cuatro actividades de capacitación y transferencia de protocolos; en soja se ejecutaron seis actividades articuladas como una secuencia de aprendizaje progresivo; y en el componente animal se llevaron a cabo tres actividades de alta especialización técnica. En conjunto, estas acciones no solo permitieron entrenar a investigadores y técnicos en procedimientos complejos, sino también adaptar metodologías a contextos institucionales concretos, fortalecer capacidades previamente inexistentes en algunos equipos y abrir nuevas oportunidades de colaboración científica entre instituciones de la región y socios internacionales.

Se realizaron 14 capacitaciones especializadas, orientadas a temas estratégicos como obtención y transfección de protoplastos, transformación genética en soja, producción *in vitro* de embriones, edición génica, biología molecular vegetal y regeneración de plantas. Como resultado, se registraron 57 participaciones en estas instancias formativas y, en el análisis de procedencia y composición de los asistentes, se reportaron 9 países y 11 instituciones, lo que refleja un alcance regional significativo. Destaca además una participación mayoritaria de mujeres (67,7 %), frente a 32,3 % de hombres, lo que muestra una contribución importante del proyecto al fortalecimiento de capacidades con una presencia femenina relevante en un campo altamente especializado.

Además, se fortaleció la difusión técnica mediante la producción de materiales formativos especializados. Se elaboraron tres manuales/cartillas de capacitación: 1) Una cartilla didáctica titulada Edición de genes en plantas: definiciones y aplicaciones en el cultivo de la papa en AGROSAVIA y el INTA, elaborada con enfoque pedagógico y disponible en formato digital; 2) Un manual de laboratorio de papa que sistematizó el flujo completo de trabajo en edición génica en siete módulos, con tablas de protocolo, glosario, actividades de integración y ejercicios aplicados. 3) Un manual de capacitación: técnicas de transformación genética en soja. Los tres materiales aportaron valor no solo por su contenido técnico, sino también por su capacidad para traducir resultados experimentales en herramientas útiles para capacitación, consulta y apropiación regional de las metodologías desarrolladas por el proyecto.

En el componente de difusión de resultados, la serie de webinars permitió posicionar la edición génica como una plataforma científica con avances concretos en cultivos y sistemas animales de la región. El proceso comenzó en 2021 con la definición de un marco conceptual para el proyecto; en 2025 mostró avances en la validación del pipeline de edición del gen MSTN en bovinos, con 5 preñeces y una eficiencia de edición del 11 %; y en 2026 se realizaron tres webinars en los que se presentaron los principales resultados del proyecto.

## MOVILIZACIÓN DE RECURSOS

Un aspecto muy positivo del proyecto fue su capacidad para generar confianza y atraer nuevos apoyos financieros. A partir del trabajo realizado, se lograron movilizar fondos adicionales en efectivo de PROCISUR y ACA por un monto aproximado de USD 170.000, equivalente a casi un 74% adicional respecto del financiamiento inicial. Este resultado muestra que el proyecto no solo avanzó en sus objetivos técnicos, sino que también despertó interés y compromiso de otros actores para fortalecer y ampliar las actividades previstas.

Adicionalmente, como resultado de los avances, productos y capacidades generadas durante la ejecución del proyecto, el equipo de trabajo logró consolidar una base técnica e institucional que permitió la formulación y preparación de nuevos proyectos complementarios. Se presentaron un total 26 nuevas propuestas de las cuales se aprobaron 14 propuestas a la fecha de este este informe. Estos esfuerzos derivaron en la obtención de financiamiento adicional por un monto de USD 1.030.000, correspondiente a iniciativas cuya base conceptual, técnica y colaborativa se originó en los resultados alcanzados por el proyecto (anexo 2). Un total de 3 propuestas no fueron adjudicadas ya que se suspendió el proceso

Asimismo, se encuentran actualmente en evaluación 9 propuestas por un monto superior a USD 1.183.010, las cuales podrían ser adjudicadas en el futuro (anexo 4). Este proceso evidencia la relevancia y aplicabilidad de los resultados obtenidos, además de la confianza generada por el equipo ejecutor entre nuevos socios, instituciones colaboradoras y potenciales financiadores, fortaleciendo así la sostenibilidad, escalabilidad y continuidad de las acciones iniciadas en el marco del proyecto.

## INDICADORES TÉCNICOS

| Descripción | Unidad | Indicador |
|---|---|---|
| **A. Indicadores de técnicos** | | |
| Protocolos para la regeneración de plantas de papa | Número | 2 |
| Protocolos estandarizados de soja | Número | 3 |
| Protocolos estandarizados en producción *in vitro* animal | Número | 2 |
| Total de soluciones tecnológicas e innovación | Número | 7 |
| Variedades editadas inscritas en registro oficial | Número | 1 |
| Consultas regulatorias resueltas (Oli-INTA clasificada como no OGM por la CTNBio de Brasil) | Número | 1 |
| Reducción de pardeamiento enzimático en Oli-INTA | Porcentaje | 74 % |
| Reducción en la actividad de polifenol oxidasa | Porcentaje | 64 % |
| Incremento en el valor económico de la producción de papa por ausencia de moretones causados por golpes | Porcentaje | Hasta el 14 % |
| Incremento en el tiempo de almacenamiento de PIRU INTA sin pérdida de calidad | Tiempo | 2X |
| **B. Productos del conocimiento y divulgación** | | |
| Total de producto de divulgación | Número | 12 |
| Videos publicados en plataformas digitales | Número | 2 |
| Presentaciones en congresos/simposios/seminarios | Número | 3 |
| Artículos científicos en revistas indexadas | Número | 4 |
| Materiales de capacitación elaborados | Número | 3 |
| Webinars | Número | 5 |
| **C. Fortalecimiento de capacidades** | | |
| Capacitaciones especializadas | Número | 13 |
| Talleres de coordinación y avance | Número | 4 |
| Total de personas capacitadas | Número | 57 |
| Participación femenina | Porcentaje | 67,7% |
| Participación masculina | Porcentaje | 32,3% |
| Tesis de estudiantes que participaron en las actividades del proyecto | Número | 3 |
| Beneficiarios Totales[1] | Número | 6575 |
| Pymes que se benefician de los proyectos y reciben asistencia técnica, con variedades de papa | Número | 3 |
| Fortalecer capacidades institucionales | Número | 10 |
| Proyectos finalizados con resultados de desarrollo satisfactorios | Número | 1 |
| **D. Alcance y difusión digital** | | |
| Descargas Publicaciones | Número | 360 |
| Visitas | Número | 8500 |
| Seguidores | Número | 845 |
| Iniciativas generadas nuevas en respuesta a demandas | Número | 28 |

[1] La cifra de **6.575 beneficiarios totales** es metodológicamente defendible como indicador de alcance neto estimado.

## HALLAZGOS DESTACADOS

Uno de los hallazgos más relevantes del proyecto fue la consolidación de una base metodológica robusta, reproducible y transferible para la aplicación de la edición génica en especies agropecuarias prioritarias de la región. En papa, se desarrollaron y validaron protocolos completos para aislamiento, transfección y regeneración de protoplastos, así como para edición del genoma mediante CRISPR/Cas9, estableciendo una plataforma experimental funcional no solo para el análisis de genes, sino también para su aplicación directa en el mejoramiento de cultivares y razas.

En el componente papa, el proyecto generó resultados particularmente destacados en sanidad, calidad industrial y validación de materiales editados. Se obtuvieron líneas con deleciones dirigidas en eIF4E1 y eIF(iso)4E asociadas a resistencia a PVY, incluyendo una línea de Désirée que permaneció negativa por RT-PCR en todos los muestreos. Asimismo, la línea PIRU INTA, editada en InvVac, mostró un desempeño sobresaliente en calidad poscosecha, manteniendo coloración clara y bajos niveles de azúcares reductores tras almacenamiento en frío. En Spunta, se lograron los primeros eventos de edición múltiple en InvVac y PPO2, y se registraron avances adicionales en tolerancia a sequía y en la adaptación de protocolos para materiales andinos en Colombia y Ecuador, ampliando la base de aplicación de la tecnología en la región.

Como parte de los resultados destacados del componente papa, se alcanzó la inscripción de la variedad Oli-INTA en el RNC de Argentina, constituyendo el primer caso de una variedad desarrollada en el país mediante edición génica que accede a registro oficial. Complementariamente, su clasificación como no OGM por la CTNBio de Brasil fortalece su viabilidad regulatoria y su potencial de adopción regional.

En soja, los hallazgos reflejan una transición efectiva desde la optimización metodológica hacia la obtención de materiales con respuestas moleculares y fenotípicas de interés agronómico y nutricional. El protocolo de media semilla superó al de nodo cotiledonario, alcanzando altas tasas de regeneración en distintas variedades, y la eficiencia promedio de edición en plantas transformadas con vectores CRISPR/Cas9 llegó al 80 % en Variedad 1. Complementariamente, se generaron líneas editadas en BS1 con mejoras en área foliar, longitud de vainas, peso de semillas y contenido de proteína, sin detrimento del contenido de aceite, y se validó la funcionalidad de construcciones dirigidas a genes asociados a tolerancia a déficit hídrico.

En el componente animal, el proyecto produjo un avance metodológico de alto valor estratégico, aun en un contexto de mayores desafíos biológicos. El diseño bioinformático de sgRNAs para MSTN en bovinos y ovinos se realizó bajo criterios estrictos de especificidad y estabilidad estructural. De manera particularmente relevante, se demostró en bovinos que la reducción del tiempo de fecundación in vitro (FIV) a 6 horas no comprometió significativamente el rendimiento embrionario, constituyendo un resultado clave ya que disminuye la ventana temporal para la incorporación tardía de ediciones y, en consecuencia, reduce el riesgo de generación de quimeras, uno de los principales cuellos de botella en la edición génica de animales. Este avance posiciona al sistema en condiciones más favorables para la obtención de individuos editados con mayor uniformidad genética.

Si bien los desarrollos se enfocaron en papa, soja y animales, las capacidades, los conocimientos y las herramientas generadas proyectan de manera concreta la expansión de esta tecnología hacia otras especies como alfalfa, lechuga, trigo y arroz, entre muchas otras en el futuro.

## HISTORIAS EN EL CAMPO

1. Una de las experiencias más relevantes fue la obtenida con la línea PIRU INTA en papa, editada en el gen InvVac, que mostró un desempeño sobresaliente en calidad industrial poscosecha, manteniendo una coloración clara en fritado luego de almacenamiento en frío y posicionándose como un material editado sin integración de ADN exógeno. Este avance fue particularmente importante porque no se limitó al plano experimental, sino que avanzó hacia una etapa de proyección regulatoria y de validación en condiciones más cercanas al uso productivo, con ensayos a campo realizados en varias localidades. Al mismo tiempo, esta experiencia dejó una enseñanza técnica valiosa: si bien el material expresó una mejora clara en calidad industrial, la evaluación agronómica mostró una leve penalidad en el rendimiento frente al testigo convencional, lo que confirma que el valor de una línea editada debe analizarse siempre de manera integral, combinando calidad, comportamiento agronómico y factibilidad de adopción. Este hecho se explica ya que la Inv-Vac es una enzima del metabolismo primario de la planta, y es altamente posible que su inactivación afecte procesos no deseados durante el ciclo de crecimiento. Sin embargo, desde el punto de vista productivo sus ventajas son mayores que sus desventajas, hecho que generó el interés de empresas argentinas de papa chips para su pronta producción.

2. La adaptación regional de la edición génica en papa a materiales andinos y contextos locales. Otra experiencia destacada fue el proceso de transferencia, ajuste y apropiación de protocolos de edición génica en papa entre distintas instituciones de la región, especialmente en Colombia, Ecuador y Perú. En este caso, el valor de la experiencia no estuvo solo en reproducir una metodología, sino en demostrar que los protocolos podían ajustarse a materiales genéticos locales y a condiciones operativas diferentes. AGROSAVIA logró estandarizar el trabajo con papa del Grupo Andigenum, obteniendo más de un millón de protoplastos, más de dos mil callos y 104 plantas regeneradas, mientras que INIAP elevó la viabilidad de protoplastos de 50 % a 84,4 % mediante modificaciones del protocolo, y en Perú se optimizaron puntos críticos del aislamiento y la transfección de protoplastos bajo condiciones locales. En términos de experiencia de campo, esto se destaca porque demuestra que la tecnología no quedó concentrada en un laboratorio líder, sino que comenzó a territorializarse y a responder a las necesidades concretas de los sistemas productivos andinos.

3. La validación *in vivo* del componente animal mediante transferencia embrionaria en bovinos. En el componente animal, la experiencia más cercana a una validación aplicada fue la ejecución del protocolo integrado de producción in vitro, microinyección y transferencia de embriones bovinos editados. El proyecto logró confirmar edición génica en embriones bovinos y avanzar hasta la transferencia de 50 embriones a receptoras sincronizadas, obteniendo 4 gestaciones iniciales confirmadas por ultrasonografía. Aunque ninguna llegó a término, esta experiencia fue muy significativa porque permitió salir del nivel exclusivamente metodológico y poner a prueba el sistema completo en condiciones biológicas reales, identificando con claridad los principales cuellos de botella del proceso. Más que un resultado negativo, esta experiencia de campo dejó una base técnica y operativa muy útil para el futuro, al mostrar que la factibilidad existe, pero que el escalamiento en rumiantes requiere tiempos más largos, mayor estabilidad de capacidades humanas y una optimización más fina de la calidad embrionaria y del proceso de edición.

# DISCUSIÓN

## Componente 1: Incrementar la sanidad y calidad nutricional e industrial de la papa a través de la edición génica

La edición génica constituye una herramienta de alto valor estratégico para el mejoramiento de la papa, debido a su capacidad para introducir modificaciones precisas en genes de interés sobre materiales élite ya adaptados, aspecto especialmente relevante en un cultivo de reproducción agámica y alta complejidad genética como *S. tuberosum*.

Los resultados obtenidos de este componente lograron avances relevantes en tres niveles complementarios. En primer lugar, los dos protocolos desarrollados para la aplicación de CRISPR/Cas9 en *S. tuberosum* aportan una base metodológica sólida para la edición de genes de interés, al organizar de manera integral etapas críticas como el diseño de sgRNA, la obtención de vectores, el ensamblaje de complejos ribonucleoproteicos, la transfección de protoplastos y la regeneración de plantas completas, lo que refuerza la viabilidad técnica de esta herramienta en un cultivo tetraploide y altamente heterocigota.

En segundo lugar, los resultados en sanidad muestran que la edición de eIF4E1 y eIF(iso)4E mediante CRISPR/Cas9 y vectores replicónicos derivados de geminivirus constituye una estrategia funcional para generar resistencia al virus Y de la papa (PVY), destacándose la respuesta robusta observada en el cultivar Désirée editado en eIF4E1, en concordancia con estudios que identifican esta isoforma como un factor de susceptibilidad central en solanáceas (Hellen & Sarnow, 2001; Nieto et al., 2006; Lucioli et al., 2022), mientras que la respuesta parcial en Patagonia-INIA sugiere la necesidad de avanzar hacia estrategias de edición múltiple, especialmente en materiales tetraploides (Miroshnichenko et al., 2020; Zlobin & Taranov, 2023).

En tercer lugar, en términos de calidad industrial poscosecha, la edición basada en RNP demostró ventajas técnicas y regulatorias al evitar la integración de ADN exógeno (Massa et al., 2025), y permitió obtener resultados concretos frente al endulzamiento inducido por frío y al pardeamiento enzimático, como se evidenció en la línea PIRU INTA y en las líneas E03-3 y E04-5B de cv. Spunta. En conjunto, estos hallazgos muestran que la edición génica no solo es una herramienta precisa para mejorar caracteres estratégicos en papa, sino también una plataforma con potencial real para fortalecer la competitividad del cultivo, aunque persisten desafíos asociados a la regeneración diferencial entre cultivares y al posible costo en rendimiento de algunas líneas editadas, aspectos que deberán ser afinados en etapas posteriores (Butler et al., 2016; Acha et al., 2021; Massa et al., 2025).

## Componente 2. Editar genéticamente soja para incrementar la calidad diferenciada para consumo por monogástricos

Para la soja no existe una única estrategia de transformación que sea universalmente superior para la introducción de CRISPR/Cas9, sino que la elección metodológica depende del material vegetal disponible, del objetivo experimental y de las capacidades técnicas de cada laboratorio. En este marco, la transformación mediada por *A. tumefaciens* se mantiene como la plataforma de referencia por su mayor eficiencia de transformación estable y por su capacidad de reducir la integración de secuencias foráneas cuando se combina con esquemas de expresión transitoria (Hwang et al., 2017; Veillet et al., 2019). Sin

embargo, su dependencia de protocolos de regeneración ajustados a cada genotipo continúa siendo una limitación operativa importante, especialmente en cultivares élite de difícil respuesta regenerativa (Li et al., 2017; Paz et al., 2006).

La biolística, por su parte, mostró una ventaja clara para la edición libre de ADN mediante RNP, ya que permite la entrega directa de proteínas sin integración cromosómica, aunque su aplicación sobre embriones somáticos multicelulares favorece la aparición de quimerismos que obligan a ciclos adicionales de propagación y genotipado (Martin-Ortigosa & Wang, 2014; Liang et al., 2017). A su vez, la transformación de protoplastos mediada por PEG conserva interés por partir de células individuales y facilitar la recuperación de eventos puros, pero la baja eficiencia regenerativa en soja restringe su utilidad práctica a ensayos rápidos de validación funcional más que a la producción de plantas completas (Yoo et al., 2007; Woo et al., 2015; Kim et al., 2017).

Finalmente, la técnica de goteo en ovario aparece como una alternativa accesible y de menor costo, y su validación mediante GUS y GFP confirmó su viabilidad como plataforma de expresión transitoria; no obstante, su adopción como método robusto de edición génica en soja todavía requiere mayor estandarización y optimización (Liu et al., 2009; Ali et al., 2015). En conjunto, estos resultados muestran que la consolidación regional de múltiples plataformas, más que la dependencia de una sola fortalece la autonomía tecnológica para la edición génica de leguminosas y amplía las opciones para abordar genes de interés agronómico y nutricional como CV1/CV2, BIG SEED, SBA1 y STS (Ge et al., 2016; Wang & Blumwald, 2014; Umnajkitikorn et al., 2020).

Desde una perspectiva de mejoramiento aplicado, los resultados también indican que la combinación del protocolo de media semilla con la cepa EHA105 de *A. tumefaciens* constituye, dentro de las plataformas evaluadas, la opción más eficiente y versátil para la edición génica en genotipos de relevancia agronómica regional, con eficiencias de regeneración superiores al 70 % y una eficiencia promedio de edición del 80 % en Variedad 1, aunque la marcada variación entre genotipos confirma que la recalcitrancia transformativa de la soja sigue siendo un desafío estructural que exige optimización continua (Paz et al., 2006; Xu et al., 2022; Zhao et al., 2025; Mariashibu et al., 2013). En este contexto, la no recuperación de plantas regeneradas en el primer experimento de edición de β-conglicinina por biolística puede interpretarse como consecuencia de la mayor complejidad de las construcciones multiplex y de la variabilidad inherente al sistema, por lo que el rediseño con marcador BASTA aparece técnicamente bien sustentado (Liang et al., 2017).

Particularmente relevante es el comportamiento de la línea BS1-5, ya que el incremento simultáneo del peso de 100 semillas y del contenido de proteína total, representa un resultado de alto valor para el mejoramiento, dado que rompe con la relación inversa históricamente observada entre proteína y aceite en soja (Hartwig & Edwards, 1970). Este patrón sugiere que GmBS1 podría estar actuando principalmente sobre la expansión celular durante el llenado del grano, más que sobre la partición de asimilados entre proteína y aceite, en concordancia con la función atribuida a la familia TIFY (Ge et al., 2016; White, 2006). Además, el incremento progresivo en la expresión de GmBS2 en generaciones sucesivas de BS1-5 sugiere una respuesta compensatoria del homeólogo, lo que podría contribuir a sostener el fenotipo mejorado y, al mismo tiempo, amortiguar efectos pleiotrópicos severos descritos en dobles mutantes BS1/BS2 (Kanazashi et al., 2018; Sim et al., 2023; Yuan & Song, 2023).

Finalmente, la postergación de la edición de KTI y BBI resulta técnicamente justificada, ya que la complejidad multigénica de ambas familias aumenta el riesgo de eventos *off-target* y demanda un nivel de análisis bioinformático y de recursos experimentales que no era compatible con el cronograma disponible (Kinney et al., 2011; Kamburova et al., 2021).

## Componente 3. Generar animales con nuevas características agropecuarias a través de la edición génica.

En conjunto, los resultados permiten concluir que el proyecto estableció una base metodológica sólida para la edición génica en animales de producción, especialmente en la etapa de diseño bioinformático de sgRNAs dirigidos al gen MSTN. La estrategia de seleccionar el exón 1 como región blanco, junto con el análisis previo de polimorfismos y la evaluación integrada de especificidad de secuencia, riesgo de *off-target* y estabilidad estructural de las guías, fortaleció la probabilidad de obtener eventos de edición funcionalmente relevantes y biológicamente consistentes con la pérdida de función buscada. Este abordaje confirma que la fase de diseño no puede entenderse como un paso meramente preliminar, sino como un componente decisivo para incrementar la precisión experimental y reducir riesgos en etapas posteriores de validación en cigotos y embriones (Aiello et al., 2018; Thomas et al., 2000; Wong et al., 2015; Kocak et al., 2019; Zheng et al., 2017).

Desde el punto de vista experimental, los resultados en bovinos muestran que la integración entre biotecnologías reproductivas y edición génica es técnicamente viable, pero todavía enfrenta limitaciones importantes en eficiencia biológica y reproductiva. La validación del protocolo de fecundación in vitro con una ventana reducida de 6 horas constituye un avance relevante, ya que ofrece una condición operativa compatible con la microinyección temprana del complejo CRISPR/Cas9 y con la reducción potencial del mosaicismo, en línea con lo señalado por la literatura reciente (Lamas-Toranzo et al., 2019; Mehravar et al., 2019; Tanihara et al., 2019). Sin embargo, la disminución observada en el desempeño embrionario tras la intervención, así como la baja tasa de preñez lograda con embriones editados, indican que la microinyección continúa siendo un punto crítico del sistema y que la optimización futura deberá concentrarse en minimizar el daño mecánico, mejorar la calidad embrionaria y fortalecer la evaluación de posibles efectos no deseados del proceso de edición (Crispo et al., 2015; Kambadur et al., 1997; Mosher et al., 2007).

Finalmente, el análisis del componente orientado al gen LGB en bovinos lecheros permite concluir que la decisión de no escalar experimentalmente esta línea dentro del período del proyecto fue técnicamente adecuada. La evidencia disponible muestra que, antes de avanzar hacia caracteres asociados a composición láctea, era necesario resolver cuellos de botella ya identificados en la edición directa de cigotos bovinos, sumados a las exigencias particulares del locus LGB y al extenso horizonte temporal requerido para obtener datos fenotípicos evaluables en animales lecheros. En este sentido, los resultados ponen de relieve que la viabilidad de futuras iniciativas en esta línea dependerá no solo de mejoras en la eficiencia técnica, sino también de un diseño de proyecto más realista en términos de duración, escalamiento y gestión de capacidades humanas, incluyendo la formación paralela de operadores y la estandarización rigurosa de procedimientos operativos (Mehravar et al., 2019; Lamas-Toranzo et al., 2019; Lonergan & Fair, 2016; Crispo et al., 2015; Menchaca et al., 2020; Ledesma & Van Eenennaam, 2024).

## Componente 4. Coordinar una plataforma pública-privada de cooperación para la generación de capacidades y la gestión de conocimiento de edición génica agropecuaria para América Latina.

Los resultados muestran que el proyecto no solo avanzó en la generación de evidencia técnica en edición génica, sino que logró hacerlo sobre una base organizativa y colaborativa cada vez más sólida. Los cuatro talleres de coordinación y avance cumplieron un papel clave al acompañar la transición desde una fase inicial de instalación de capacidades y ajuste metodológico hacia otra de resultados más consistentes, con validación técnica y proyección regulatoria y de aplicación en campo. En este proceso, la articulación entre instituciones, el intercambio de conocimientos y la formación progresiva de capacidades fueron tan importantes como los propios resultados experimentales, porque permitieron sostener el ritmo de trabajo y responder de manera integrada a limitaciones técnicas, problemas de transformación, restricciones logísticas y dificultades presupuestarias. En ese sentido, la experiencia sugiere que, en proyectos regionales de alta complejidad tecnológica, la calidad de la coordinación y la capacidad de adaptación del consorcio son factores determinantes para convertir avances parciales en resultados acumulativos y con mayor proyección.

Asimismo, se pone en evidencia que la capacitación y la divulgación no operaron como componentes complementarios, sino como mecanismos estratégicos para ampliar la sostenibilidad y el alcance del proyecto. La realización de 14 capacitaciones especializadas, con 57 participaciones provenientes de 9 países y 11 instituciones, junto con la elaboración de tres manuales o cartillas y once productos de divulgación, permitió que los conocimientos generados no quedaran restringidos a los equipos ejecutores, sino que se transformaran en capacidades transferibles y en recursos útiles para otros actores de la región. Esta dimensión formativa y comunicacional fortaleció la proyección del proyecto más allá de sus resultados inmediatos y contribuyó a consolidar una comunidad técnica con mayor autonomía, articulación y capacidad de continuidad.

## CONCLUSIONES

Es importante destacar la magnitud y el alcance estratégico del proyecto, con múltiples aristas, por lo que resulta difícil interpretarlo como un proyecto único en sentido convencional. Más bien, se consolidó como una plataforma regional integrada que articuló tres líneas de trabajo de alta complejidad científica y tecnológica: edición génica en papa, soja y bovinos. Cada una de estas líneas, por su nivel de especialización, diversidad de actores, requerimientos técnicos y potencial impacto productivo, habría podido constituir por sí sola un proyecto independiente, amplio y ambicioso. Sin embargo, su abordaje conjunto permitió potenciar capacidades, generar aprendizajes compartidos y consolidar una visión regional sobre el uso de la edición génica aplicada a sistemas agroalimentarios estratégicos.

En este sentido, el proyecto se diferencia de un proyecto tecnológico convencional orientado exclusivamente a la obtención de un producto final específico. Si bien se alcanzaron resultados concretos y tangibles que incluyen materiales genéticamente editados, desarrollos metodológicos, validaciones regulatorias y plataformas experimentales funcionales, uno de sus principales logros fue la generación e instalación de capacidades científicas, tecnológicas y humanas en torno a la edición génica. Estas capacidades constituyen una base estratégica que trasciende ampliamente los resultados inmediatos del proyecto y que permitirá, en los próximos años, el desarrollo de múltiples nuevos productos, aplicaciones y soluciones biotecnológicas adaptadas a las necesidades de la región.

En tal sentido, el proyecto logró establecer una base técnica robusta para la aplicación de la edición génica en especies agropecuarias estratégicas de la región, con avances especialmente consistentes en papa y soja. En el caso de papa, la estandarización de dos protocolos para aislamiento, transfección, regeneración de protoplastos y edición del genoma mediante CRISPR/Cas9 demostró que es posible contar con metodologías reproducibles y transferibles para el análisis funcional de genes y el mejoramiento y desarrollo de nuevos cultivares. Estos avances no solo permitieron generar materiales editados, sino también consolidar una plataforma experimental con capacidad de adaptación a distintos objetivos de sanidad y calidad poscosecha.

Los resultados obtenidos en papa muestran, además, que la edición génica puede traducirse en atributos de alto valor agronómico e industrial. La identificación de líneas con deleciones dirigidas en genes asociados a resistencia a PVY, junto con la obtención de materiales editados libres de integración transgénica estable, representa un avance relevante en el desarrollo de alternativas biotecnológicas con potencial de aceptación regulatoria. De igual manera, la generación de las líneas Oli-INTA y PIRU INTA y de eventos de edición múltiple en Spunta confirma que la tecnología permitió intervenir caracteres vinculados con calidad industrial y pardeamiento enzimático, que generaron el interés de al menos 3 empresas procesadoras de papa para su evaluación y posterior incorporación en sus esquemas productivos.

Entre los resultados más relevantes del proyecto se destaca el logro de un hito histórico para la región: la inscripción de una variedad de papa desarrollada mediante edición génica en el Registro Nacional de Cultivares (RNC) de Argentina. Este avance representa no solo un resultado técnico de alta relevancia, sino también una validación institucional del potencial de la edición génica aplicada al mejoramiento de cultivos estratégicos. Asimismo, Oli-INTA fue sometida a evaluación ante la oficina regulatoria de Brasil, al igual que la Secretaría de Agricultura de Argentina, determinó que el material se considera no transgénico y que

su tratamiento regulatorio es equivalente al de cualquier desarrollo obtenido por mejoramiento convencional. Este reconocimiento regulatorio constituye un antecedente significativo para América Latina, ya que avanza en la armonización regulatoria de productos obtenidos mediante nuevas técnicas de mejoramiento y abre el camino hacia instancias formales de registro, evaluación y eventual adopción productiva en diferentes países de ALC.

En soja, el proyecto demostró que fue posible avanzar desde la optimización metodológica hacia la obtención de materiales con cambios medibles en caracteres de interés. La superioridad del protocolo de media semilla frente a otras estrategias, la funcionalidad demostrada de la biolística para entrega de RNP y TIV, y la generación de líneas editadas en el gen GmBS1 con mejoras en tamaño de semilla, contenido proteico y perfil lipídico, evidencian que la edición génica puede integrarse de manera efectiva en esquemas de mejoramiento para calidad diferenciada. En conjunto, estos resultados confirman que el componente no solo produjo herramientas y construcciones útiles, sino también materiales biológicos con respuestas fenotípicas y moleculares consistentes con los objetivos planteados.

En el componente animal, el proyecto dejó avances metodológicos importantes, aunque también puso en evidencia la mayor complejidad operativa y biológica de trasladar la edición génica a sistemas de reproducción asistida en bovinos y ovinos. La validación del esquema de fecundación *in vitro* reducida a 6 horas, el diseño y validación computacional de sgRNAs para MSTN y LGB, y la confirmación de edición en embriones bovinos demostraron la factibilidad técnica del enfoque. Sin embargo, la baja eficiencia en el desarrollo embrionario posterior, la ausencia de gestaciones llevadas a término y las limitaciones logísticas y de personal especializado muestran que, en estas especies, el escalamiento experimental depende de capacidades operativas altamente estables, tiempos biológicos extensos y condiciones institucionales que exceden muchas veces el horizonte regular de ejecución de un proyecto.

Otro aspecto central para destacar es que el proyecto permitió iniciar, fortalecer y consolidar capacidades en edición génica en países que, en muchos casos, partían de una base técnica incipiente o incluso inexistente. En varios equipos nacionales, las capacidades para diseñar, implementar y validar estrategias de edición génica comenzaron prácticamente desde cero, lo que otorga mayor relevancia a los avances alcanzados. A pesar de estas brechas iniciales, el proyecto logró generar masa crítica, formar recursos humanos especializados, transferir protocolos, instalar aprendizajes técnicos y abrir nuevas líneas de investigación aplicada. Estos avances no solo fortalecieron las capacidades institucionales de los países socios, sino que también crearon condiciones para la formulación y presentación de nuevas propuestas a fondos competitivos, evidenciando un efecto multiplicador en la movilización de recursos.

Finalmente, uno de los logros más sólidos del proyecto fue la consolidación de una plataforma regional de cooperación, capacitación y gestión del conocimiento en edición génica agropecuaria. Los talleres de coordinación, las 14 capacitaciones especializadas, la participación de instituciones de 9 países, la elaboración de manuales y cartillas, y la producción sostenida de materiales de divulgación y webinars muestran que el proyecto no se limitó a generar resultados experimentales, sino que también construyó capacidades instaladas, redes de colaboración y mecanismos de transferencia de conocimiento con proyección regional.

En ese sentido, la principal conclusión es que el proyecto fortaleció una infraestructura científica, tecnológica y humana que amplía significativamente las posibilidades de continuidad, adaptación y

escalamiento de la edición génica en América Latina y el Caribe. Más allá de los resultados específicos ya alcanzados, el mayor impacto del proyecto probablemente se manifestará en el futuro, a través de nuevos desarrollos derivados de las capacidades instaladas durante su ejecución. La formación de recursos humanos especializados, la generación de plataformas metodológicas, la articulación regional y la experiencia acumulada posicionan hoy a los grupos e instituciones participantes en un nivel de capacidades comparable al de países con mayor desarrollo científico y económico, constituyendo un activo estratégico para la soberanía tecnológica y la innovación agrobiotecnológica de la región.

Finalmente, un aspecto no menor es que las capacidades desarrolladas en el marco del proyecto no se circunscriben exclusivamente a las especies abordadas durante su ejecución. Por el contrario, los conocimientos, metodologías, plataformas experimentales y recursos humanos generados poseen un carácter transversal que habilita su aplicación y adaptación a numerosas otras especies vegetales y animales de importancia regional y global, ampliando significativamente el potencial de impacto futuro de la iniciativa.

## RECOMENDACIONES

1. Profundizar la validación agronómica y precomercial de los materiales editados más promisorios. Los resultados obtenidos en papa y soja muestran avances sólidos y materiales con características de interés, demostrando la factibilidad y potencial de la aproximación técnica escogida. En este sentido, es fundamental su evaluación en condiciones de campo, en distintos ambientes y ciclos productivos, para confirmar la estabilidad de los rasgos observados, su desempeño agronómico integral y su potencial de escalamiento. Esto es especialmente importante en materiales como los orientados a calidad poscosecha y resistencia, donde el buen desempeño en laboratorio o invernadero debe complementarse con evidencia robusta en condiciones reales de producción.

2. Consolidar y estandarizar los protocolos que mostraron mayor reproducibilidad para acelerar su adopción regional. El proyecto generó metodologías validadas y transferibles en papa, soja y reproducción animal, por lo que una recomendación clave es continuar afinando estos protocolos mediante procedimientos operativos estandarizados, criterios de control de calidad y validaciones entre laboratorios. Esto permitiría reducir variaciones entre instituciones, facilitar la réplica de resultados y fortalecer la capacidad de los equipos regionales para aplicar estas herramientas con mayor autonomía, eficiencia y seguridad técnica.

3. Fortalecer las capacidades operativas en edición génica animal antes de escalar nuevas metas experimentales. En bovinos y ovinos, los resultados muestran que existe una base metodológica importante, pero también que el escalamiento depende de condiciones técnicas, logísticas y humanas altamente exigentes. En este contexto, resulta crítico no solo consolidar las capacidades de edición *in vitro* de embriones, sino también asegurar el soporte integral de las biotecnologías reproductivas y el adecuado estado fisiológico y sanitario de los animales, como factores determinantes para maximizar las tasas de preñez a partir de embriones editados. Dado que la obtención de gestaciones exitosas constituye un punto clave en la generación de animales editados, se recomienda priorizar la estabilización de los sistemas de producción *in vitro*, microinyección, transferencia embrionaria y seguimiento reproductivo, así como la formación de personal especializado y la continuidad operativa de los laboratorios. Sin la adecuada integración de estos componentes, los avances en edición embrionaria pueden ver limitada su traducción en resultados concretos, comprometiendo la eficiencia y sostenibilidad de las fases subsiguientes del trabajo.

4. Mantener e intensificar la estrategia de formación y transferencia de conocimiento entre instituciones. Uno de los logros más valiosos del proyecto fue la construcción de capacidades regionales a través de talleres, capacitaciones, manuales y materiales técnicos. En este sentido, se recomienda dar continuidad a este esfuerzo mediante nuevas instancias de entrenamiento práctico, actualización metodológica y acompañamiento técnico entre pares, con especial atención a instituciones que iniciaron recientemente su dominio operativo en estas tecnologías. Sostener esta red de aprendizaje permitirá que los resultados no queden concentrados en pocos grupos, sino que se traduzcan en capacidades distribuidas y duraderas en la región.

5. Articular desde etapas tempranas la investigación técnica con la proyección regulatoria, comunicacional y de uso futuro. La experiencia del proyecto muestra que los avances más

estratégicos son aquellos que, además de ser técnicamente exitosos, cuentan con una ruta clara hacia su validación regulatoria, su comprensión pública y su posible adopción. Por ello, se recomienda que las siguientes etapas integren desde el inicio la generación de evidencia molecular, fenotípica y agronómica con acciones de comunicación científica, divulgación y seguimiento regulatorio. Esto permitirá aprovechar mejor el valor de los materiales editados, fortalecer su aceptación y facilitar una transición más ordenada desde la experimentación hacia aplicaciones con impacto real.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


Acha, V., et al. (2021). CRISPR tools for woody plants. *Plant Biotechnology Journal*, *19*, 1234–1246.

Aiello, D., Patel, K., & Lasagna, E. (2018). The myostatin gene: an overview of mechanisms of action and its relevance to livestock animals. *Animal Genetics*, *49*(6), 505–519. https://doi.org/10.1111/age.12696

Ali, A., Bang, S. W., Chung, S. M., & Staub, J. E. (2015). Plant transformation via pollen tube-mediated gene transfer. *Plant Molecular Biology Reporter*, *33*, 742–747.

Argentina. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2015). Resolución 173/2015. Establece los procedimientos para determinar cuándo un cultivo, obtenido a partir de nuevas técnicas de mejoramiento que utilicen técnicas de biotecnología moderna, no se encuentra comprendido en el marco de la Resolución N° 763/2011. Boletín Oficial de la República Argentina, (33.131), 40. https://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/245000-249999/246978/norma.htm

Argentina. Ministerio de Desarrollo Productivo. (2020). Resolución 514/2020: Comisión Consultiva para la Promoción de la Biotecnología Moderna - Conformación. Boletín Oficial de la República Argentina. https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/resolución-514-2020-342868

Brasil. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. (2018). Resolução Normativa Nº 16. Estabelece os requisitos técnicos para apresentação de consulta à CTNBio sobre as Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão. Diário Oficial da União. http://ctnbio.mctic.gov.br/resolucoes-normativas.

Buchheim, J. A., Colburn, S. M., & Ranch, J. P. (1989). Maturation of soybean somatic embryos and the transition to plantlet growth. *Plant Physiology*, *89*(3), 768–775.

Butler, N. M., Baltes, N. J., Voytas, D. F., & Douches, D. S. (2016). Geminivirus-mediated genome editing in potato (*Solanum tuberosum* L.) using sequence-specific nucleases. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 1045. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01045

Cámara Paraguaya de Exportadores y Comercializadores de Cereales y Oleaginosas. (2021). Informe de Comercio Exterior: Área de cosecha y producción de soja, campaña 2020/2021. CAPECO. https://capeco.org.py/

Crispo, M., Mulet, A. P., Tesson, L., Barrera, N., Cuadro, F., Dos Santos-Neto, P. C., Nguyen, T. H., Crénéguy, A., Brusselle, L., Anegón, I., & Menchaca, A. (2015). Efficient generation of myostatin knock-out sheep using CRISPR/Cas9 technology and microinjection into zygotes. *PLoS ONE*, *10*(8), e0136690. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136690

FAO. (2017). *El futuro de la alimentación y la agricultura: Tendencias y desafíos*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. https://www.fao.org/3/i6881s/i6881s.pdf

Federación Colombiana de Productores de Papa. (2019). Informe de gestión 2019: Logros y retos del sector papero. Fedepapa.

Ge, L., Yu, J., Wang, H., Luth, D., Bai, G., Wang, K., & Chen, R. (2016). Increasing seed size and quality by manipulating BIG SEEDS1 in legume species. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, *113*(45), 12414–12419. https://doi.org/10.1073/pnas.1611209113

Hartwig, E. E., & Edwards, C. J. (1970). Effects of morphology on seed yield in soybeans. *Agronomy Journal*, *62*(1), 68–70. https://doi.org/10.2134/agronj1970.00021962006200010021x

Hellen, C. U. T., & Sarnow, P. (2001). Internal ribosome entry sites in eukaryotic mRNA molecules. *Genes & Development*, *15*(13), 1593–1612.

Hwang, H. H., Yu, M., & Lai, E. M. (2017). *Agrobacterium*-mediated plant transformation: biology and applications. *The Arabidopsis Book*, *15*, e0186.

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2019). La bioeconomía: un catalizador para el desarrollo sostenible de la agricultura y de los territorios rurales en América Latina y el Caribe. IICA.

Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2019). Censo Nacional Agropecuario 2018: Resultados preliminares. INDEC. https://www.indec.gob.ar/

Kambadur, R., Sharma, M., Smith, T. P. L., & Bass, J. J. (1997). Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscled Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Research*, *7*(9), 910–916. https://doi.org/10.1101/gr.7.9.910

Kamburova, V. S., Nikitina, E. V., Shermatov, S. E., Buriev, Z. T., Kumpatla, S. P., Emani, C., & Abdurakhmonov, I. Y. (2021). Genome editing in plants: An overview of tools and applications. *International Journal of Agronomy*, 7315351. https://doi.org/10.1155/2017/7315351

Kanamori, N., Mertz-Henning, L. M., Rockenbach Marin, S. R., da Silveira, C. A., Prela Marinho, J., & Lima Nepomuceno, A. (2017). *Metodologia para transformação de soja via Agrobacterium tumefaciens* (Comunicado Técnico 128). Embrapa Soja. https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1071918/1/CT128.pdf

Kanazashi, Y., Hirose, A., Takahashi, I., Mikami, M., Endo, M., Hirano, T., Toki, S., Fujita, M., & Akagi, T. (2018). Simultaneous site-directed mutagenesis of duplicated loci in soybean using a single guide RNA. *Plant Cell Reports*, *37*(3), 553–563. https://doi.org/10.1007/s00265-018-2451-5

Kim, H., Kim, S. T., Ryu, J., Kang, B. C., Kim, J. S., & Kim, S. G. (2017). CRISPR/Cpf1-mediated DNA-free plant genome editing. *Nature Communications*, *8*(1), 14406.

Kinney, A. J., Cahoon, E. B., Hitz, W. D., & Knowlton, S. (2011). Genetic improvement of soybean fatty acid composition. En S. Raymer (Ed.), *Soybean: Molecular aspects of breeding* (pp. 357–382). InTech.

Kocak, D., et al. (2019). Increasing the specificity of CRISPR systems with engineered RNA secondary structures. *Nature Biotechnology*, *37*, 657–666.

Lamas-Toranzo, I., Galiano-Cogolludo, B., Cornudella-Ardiaca, F., Cobos-Figueroa, J., Ousinde, O., & Bermejo-Álvarez, P. (2019). Strategies to reduce genetic mosaicism following CRISPR-mediated genome edition in bovine embryos. *Scientific Reports*, *9*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-019-51366-8

Lauro, A., et al. (2025). *In vitro* bovine embryo production compatible with gene editing. [Publicación del proyecto]. https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Agcd%3A14%3A18049422/detailv2

Ledesma, A., & Van Eenennaam, A. L. (2024). Regulatory landscape and adoption of gene-edited livestock. *Annual Review of Animal Biosciences*, *12*, 327–350. https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021022-054709

Li, S., Cong, Y., Liu, Y., Wang, T., Shuai, Q., Chen, N., Gai, J., & Li, Y. (2017). Optimization of *Agrobacterium*-mediated transformation in soybean. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 246. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00246

Liang, Z., Chen, K., Li, T., et al. (2017). Efficient DNA-free genome editing of bread wheat using CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes. *Nature Communications*, *8*, 14261. https://doi.org/10.1038/ncomms14261

Liu, J., Su, Q., An, L., & Yang, A. (2009). Transfer of a minimal linear marker-free and vector-free smGFP cassette into soybean via ovary-drip transformation. *Biotechnology Letters*, *31*, 295–303.

Lonergan, P., & Fair, T. (2016). Maturation of oocytes in vitro. *Annual Review of Animal Biosciences*, *4*, 255–268. https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022114-110822

Lucioli, A., Tavazza, R., Baima, S., Fatyol, K., Burgyan, J., & Tavazza, M. (2022). CRISPR-Cas9 targeting of the eIF4E1 gene extends the potato virus Y resistance spectrum of *Solanum tuberosum* L. cv. Désirée. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 873930. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.873930

Mariashibu, T. S., Anbazhagan, V. R., Jiang, S.-Y., Ganapathi, A., & Ramachandran, S. (2013). *In vitro* regeneration and genetic transformation of soybean: Current status and future prospects. En J. E. Board (Ed.), *A comprehensive survey of international soybean research* (Cap. 20). IntechOpen. https://doi.org/10.5772/54268

Martin-Ortigosa, S., & Wang, K. (2014). Proteolistics: a biolistic method for intracellular delivery of proteins. *Transgenic Research*, *23*, 743–756.

Massa, G. A., Décima Oneto, C. A., González, M. N., Poulsen Hornum, A., Arizmendi, A., Sucar, S., Divito, S. B., & Feingold, S. E. (2025). CRISPR/Cas9-mediated development of potato varieties with long-term cold storage and bruising resistance. *Biology*, *14*(4), 445. https://doi.org/10.3390/biology14040445

Mehravar, M., Shirazi, A., Mehrazar, M. M., Nazari, M., Banan, M., & Salimi, M. (2019). Efficient Production of Biallelic RAG1 Knockout Mouse Embryonic Stem Cell Using CRISPR/Cas9. Iranian Journal of Biotechnology, 17(1), e2205.

Menchaca, A., dos Santos-Neto, P. C., Mulet, A. P., & Crispo, M. (2020). CRISPR in livestock: From editing to printing. *Theriogenology*, *150*, 247–254. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.063

Miroshnichenko, D., et al. (2020). eIF4E and virus susceptibility. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 1023.

Mosher, D. S., Quignon, P., Bustamante, C. D., Sutter, N. B., Mellersh, C. S., Parker, H. G., & Ostrander, E. A. (2007). A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs. *PLOS Genetics*, *3*(5), e79. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030079

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with *Nicotiana tabacum* Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, *15*(3), 473–497.

Nieto, C., Morales, M., Orjeda, G., Clepet, C., Monfort, A., Sturbois, B., & Bendahmane, A. (2006). An eIF4E allele confers resistance to an uncapped and non-polyadenylated RNA virus in melon. *The Plant Journal*, *48*(3), 452–462. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02885.x

Olivares, M., et al. (2021). Genome editing platforms in plants. *Plant Methods*, *17*, 89.

Paraguay. Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2019, 13 de mayo). Resolución MAG N° 565/2019. Por la cual se aprueba el Formulario 3 de Consulta Previa para productos obtenidos mediante nuevas técnicas de mejoramiento genético (NBTs). http://mag.gov.py

Paz, M. M., Martínez, J. C., Kalvig, A. B., Fonger, T. M., & Wang, K. (2006). Improved cotyledonary node method using an alternative explant derived from mature seed for efficient *Agrobacterium*-mediated soybean transformation. *Plant Cell Reports*, *25*(3), 206–213. https://doi.org/10.1007/s00299-005-0048-7

Rizos, D., Ward, F., Duffy, P., Boland, M. P., & Lonergan, P. (2002). Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization or early embryo development *in vitro* versus *in vivo*. *Molecular Reproduction and Development*, *61*(2), 234–248. https://doi.org/10.1002/mrd.1153

Samoylov, V. M., Tucker, D. M., & Parrott, W. A. (1998). Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] embryogenic cultures: the role of sucrose and total nitrogen content on proliferation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology — Plant*, *34*, 8–13.

Sim, S., Choi, K., Park, M., Park, H., Koh, H.-J., & Kwon, S. W. (2023). Phenotypic and transcriptomic characterization of double mutants of GmBIG SEEDS in soybean. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1108234. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1108234

Song, G., Jia, M., Chen, K., Kong, X., Khattak, B., Xie, C., & Mao, L. (2016). CRISPR/Cas9: a powerful tool for crop genome editing. *The Crop Journal*, *4*(2), 75–82.

Sun, X., Hu, Z., Chen, R., Jiang, Q., Song, G., Zhang, H., & Xi, Y. (2015). Targeted mutagenesis in soybean using the CRISPR-Cas9 system. *Scientific Reports*, *5*(1), 10342.

Tanihara, F., Hirata, M., Nguyen, N. T., Le, Q. A., Hirano, T., & Otoi, T. (2019). Effects of concentration of CRISPR/Cas9 components on genetic mosaicism in cytoplasmic microinjected porcine embryos. *Journal of Reproduction and Development*, *65*(3). https://doi.org/10.1262/jrd.2018-116

Thomas, M., Langley, B., Berry, C., Sharma, M., Kirk, S., Bass, J., & Kambadur, R. (2000). Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(51), 40235–40243. https://doi.org/10.1074/jbc.M004356200

United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service. (2019). Agricultural Biotechnology Annual - Argentina (Report No. AR2019-0023). USDA-FAS GAIN. https://apps.fas.usda.gov/

Uruguay. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Oficina de Programación y Política Agropecuaria. (2019). Anuario Opypa 2019. MGAP. www.gub.uy

Umnajkitikorn, K., Sade, N., Rubio Wilhelmi, M. D. M., Gilbert, M. E., & Blumwald, E. (2020). Silencing of OsCV (chloroplast vesiculation) maintained photorespiration and N assimilation in rice plants grown under elevated $CO_2$. *Plant, Cell & Environment*, *43*(4), 920–933.

Veillet, F., Perrot, L., Chauvin, L., Kermarrec, M., Guyon-Debast, A., Chauvin, J., Nogué, F., & Mazier, M. (2019). Transgene-free genome editing in tomato and potato plants using *Agrobacterium*-mediated delivery of a CRISPR/Cas9 cytidine base editor. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(2), 402. https://doi.org/10.3390/ijms20020402

Walter, M., et al. (2019). Potato genome reference. *Nature Genetics*, *51*, 123–130.

Wang, S., & Blumwald, E. (2014). Stress-induced chloroplast degradation in *Arabidopsis* is regulated via a process independent of autophagy and senescence-associated vacuoles. *The Plant Cell*, *26*(12), 4875–4888.

White, D. W. (2006). PEAPOD regulates lamina size and curvature in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, *103*(35), 13238–13243. https://doi.org/10.1073/pnas.0604349103

Wong, N., et al. (2015). WU-CRISPR: Characteristics of functional guide RNAs for the CRISPR/Cas9 system. *Genome Biology*, *16*(1), 218–225.

Woo, J., et al. (2015). DNA-free genome editing in plants with preassembled CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins. *Nature Biotechnology*, *33*, 1162–1164.

Wright, M. S., Launis, K. L., Novitzky, R., Duesing, J. H., & Harms, C. T. (1991). A simple method for the recovery of multiple fertile plants from individual somatic embryos of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology — Plant*, *27*, 153–157.

Xu, H., Guo, Y., Qiu, L., & Ran, Y. (2022). Progress in soybean genetic transformation over the last decade. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 900318. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.900318

Xu, J., et al. (2017). Optimized guide RNA structure for genome editing via Cas9. *Oncotarget*, *8*, 94166–94171.

Yoo, S. D., Cho, Y. H., & Sheen, J. (2007). *Arabidopsis* mesophyll protoplasts: a versatile cell system for transient gene expression analysis. *Nature Protocols*, *2*(7), 1565–1572.

Yuan, J., & Song, Q. (2023). Polyploidy and diploidization in soybean. *Molecular Breeding*, *43*, 51. https://doi.org/10.1007/s11032-023-01365-4

Zaidi, S. S., Mukhtar, M. S., & Mansoor, S. (2018). Genome Editing: Targeting Susceptibility Genes for Plant Disease Resistance. *Trends in Biotechnology*, *36*(9), 898–906. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.04.005

Zhao, Y., Cheng, P., Liu, Y., Liu, C., Hu, Z., Xin, D., Wu, X., Yang, M., & Chen, Q. (2025). A highly efficient soybean transformation system using GRF3-GIF1 chimeric protein. *Journal of Integrative Plant Biology*, *67*(1), 3–6. https://doi.org/10.1111/jipb.13767

Zheng, T., et al. (2017). Profiling single-guide RNA specificity reveals a mismatch sensitive core sequence. *Scientific Reports*, *7*, 40638. https://doi.org/10.1038/srep40638

Zlobin, N., & Taranov, V. (2023). Plant eIF4E isoforms as factors of susceptibility and resistance to potyviruses. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1041868. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1041868

# ANEXOS

## Anexo 1. Artículos publicados en el proyecto.


Decima Oneto, C. A., Massa, G. A., Echarte, L., Rey Burusco, M. F., González, M. N., Alfonso, C. S., Laserna, M. P., Norero, N. S., Divito, S. B., & Feingold, S. E. (2025). CRISPR/Cas9 editing of CBP80 enhances drought tolerance in potato (*Solanum tuberosum*). *Frontiers in Plant Science*, *16*, 1598947. https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1598947

González, M. N., Massa, G. A., Andersson, M., Storani, L., Olsson, N., Décima Oneto, C. A., Hofvander, P., & Feingold, S. E. (2023). CRISPR/Cas9 technology for potato functional genomics and breeding. *Methods in Molecular Biology*, *2653*, 333–361. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3131-7_21

Grbich, M., Muñoz, M., Zúñiga, G. E., Valdovinos, G., Acha, G., Vergara, R., Mora, R., Olivares, F., Olmedo, B., & Prieto, H. (2026). Transgene-free editing of PPO2 in elite potato cultivar Yagana for reduced postharvest browning. *Agronomy*, *16*(2), 216. https://doi.org/10.3390/agronomy16020216

Lauro, A., Hozbor, F., & Picotto, L. (2025). Producción *in vitro* de embriones bovinos compatible con la edición génica. *Taurus*, *27*(108), 39.

Massa, G. A., Décima Oneto, C. A., González, M. N., Poulsen Hornum, A., Arizmendi, A., Sucar, S., Divito, S. B., & Feingold, S. E. (2025). CRISPR/Cas9-mediated development of potato varieties with long-term cold storage and bruising resistance. *Biology*, *14*(4), 445. https://doi.org/10.3390/biology14040445

## Anexo 2. Movilización de fondos: propuestas adjudicadas por diferentes donantes con base en los resultados obtenidos en el proyecto.

| Año | País/Institución | Proyecto | Monto (USD) | Estado |
|---|---|---|---|---|
| **2023** | Colombia / AGROSAVIA | Convocatoria 937-2023 Investigación Fundamental – MINCIENCIAS Colombia: Descifrando las bases genéticas de la producción de compuestos nutricionales y la respuesta al tizón tardío en papa. | 230.000 | En curso |
| **2024** | Argentina / Fundación Williams | Fundación Williams 2024: Obtención de plantas de soja tolerantes a déficit hídrico por edición génica. | 10.000 | Adjudicado |
| **2025** | Chile / Universidad de Concepción, Universidad Andrés Bello e INIA Chile | FONDEF Tecnología Avanzada (TA25I10087): WinEd: Innovación en vitivinicultura, plataformas ómicas y de edición génica orientadas a la producción de vinos de alta calidad. | 120.000 | Adjudicado |
| **2022** | Argentina / CONICET | PIP-CONICET: Aplicación de CRISPR/Cas para el desarrollo de plantas de papa y alfalfa tolerantes a enfermedades fúngicas. | 15.000 | Adjudicado |
| **2026** | Argentina / INTA CONICET | PIET-R-CONICET: Soluciones agrobiotecnológicas para la resistencia a enfermedades mediante edición génica en cultivos de interés estratégico. | 43.000 | Adjudicado |
| **2026** | Argentina / Universidad Nacional de Mar del Plata | PTIT-UNMdP: Desarrollo de variedades de papa con resistencia a *Phytophthora infestans* mediante edición génica dirigida. | 5.000 | Adjudicado |
| **2024** | Chile / INIA Chile | Agencia Nacional de Investigación: Mejoramiento Genético Estratégico en INIA: Desarrollo de Plataformas de Edición Génica Basadas en CRISPR/Cas. | 60.000 | Finalizado |
| **2024** | Chile / INIA Chile | SOFOFA Hub-Biotecnología: Desarrollo de una plataforma de expansión celular vegetal, con la finalidad de realizar edición génica sobre especies vegetales y prestar dicho servicio a terceros. | 120.000 | Finalizado |
| **2024** | Uruguay / INIA Uruguay / UdelaR / UTEC | Proyecto: Edición génica: mejoramiento de precisión en tomate, soja y trigo. | 100.000 | Adjudicado |
| **2024** | Uruguay / INIA Uruguay / UdelaR / National Institute of Agricultural | Proyecto: Drought-tolerant Gene Selection and Biotechnology Soybean Seed Development. | 200.000 | Adjudicado |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Sciences (RDA, Corea) | | | |
| **2022** | Argentina / Biodesarrollar | Biodesarrollar: AMAIA INTA - línea de papa tolerante al estrés hídrico. | 12.000 | En ejecución |
| **2022** | Argentina / Biodesarrollar | Biodesarrollar: PIRU INTA - línea de papa con resistencia al endulzamiento inducido por frío. | 12.000 | En ejecución |
| **2022** | Argentina / FOAR/APCI/IICA | FOAR/APCI/IICA: Fortalecimiento de capacidades para actividades con New Breeding Techniques (NBT), incluyendo edición génica. | 60.000 | Finalizado |
| **2025** | Argentina / INTA | PIETR 2025: Mejoramiento de soja por edición génica para incrementar la productividad en condiciones de estrés abiótico. | 43.000 | Adjudicado |
| **Monto total de proyectos adjudicados** | | | **1.030.000** | |

## Anexo 3. Propuestas presentadas a convocatorias que fueron suspendidas durante el proceso de adjudicación.

| **Año** | **País/Institución** | **Proyecto** | **Monto (USD)** | **Estado** |
|---|---|---|---|---|
| **2021** | Argentina / ANPCyT | PICT-2021-GRFTI-00408: Estudio de la pérdida de función del gen de susceptibilidad StSR1 mediante CRISPR/Cas9 como estrategia para la obtención de resistencia al tizón tardío. | 15.600 | Convocatoria suspendida |
| **2023** | Argentina / INTA | PICT / RAÍCES: Criptorquidia bilateral en ovinos mediante edición génica. | 50.000 | Convocatoria suspendida |
| **2024** | Argentina / INTA | PICT-INVI: Producción de embriones bovinos editados genéticamente: una alternativa a la castración a favor del bienestar animal. | 15.000 | Convocatoria suspendida |

## Anexo 4. Propuestas presentadas con base al proyecto y en espera de resultados de adjudicación.

| Año | País/Institución | Proyecto | Monto (USD) | Estado |
|---|---|---|---|---|
| **2025** | Argentina / INTA | PIP CONICET 2025–2027: Estrategias biotecnológicas integradas para el control de *Phytophthora infestans* en papa. | 10.000 | En evaluación |
| **2025** | Colombia / AGROSAVIA / ICGEB | ICGEB 2025 – International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology: Biotechnological Innovations for the Development of Advanced Potato Lines with High Nutritional Value and Potential to Mitigate Food Insecurity in Colombia. | 87.010 | En evaluación |
| **2026** | Argentina / INTA | Fundación Williams 2026: Edición génica del gen StPPO2 en la variedad PIRU INTA para reducción del pardeamiento enzimático. | 16.000 | En evaluación |
| **2026** | Regional / INTA | FONTAGRO 2026: Plataforma regional de edición génica abierta para mejorar la resiliencia sanitaria de cultivos estratégicos. | 250.000 | En evaluación |
| **2026** | Regional / INTA | FONTAGRO 2026: Ganadería sostenible y resiliente mediante edición génica: mayor eficiencia productiva y menor huella ambiental. | 250.000 | En evaluación |
| **2026** | Regional / INTA | FONTAGRO 2026: Estrategias convencionales, genómicas y de edición génica para el mejoramiento de alfalfa tolerante a sequía. | 250.000 | En evaluación |
| **2026** | Argentina / INTA | Agencia I+D+i: Escalado productivo y desarrollo de papa de alta calidad para industria. | 120.000 | Presentado |
| **2026** | Brasil / EMBRAPA, INTA | PROSUL Pepe Mujica Faixa C – Reprogramação metabólica em batata via edição genômica CRISPR/Cas para a segurança alimentar e enfrentamento da emergência climática. | 80.000 | Presentado |
| **2026** | Brasil / EMBRAPA, INTA | PROSUL Pepe Mujica: Rede latino-americana de pesquisa para o avanço da edição gênica aplicada ao melhoramento de precisão para a pecuária tropical. | 120.000 | Presentado |
| **Subtotal en evaluación** | | | **1.183.010** | |

## INSTITUCIONES PARTICIPANTES












Secretaría Técnica Administrativa

FONTAGRO

Con el apoyo de:

BID
Banco Interamericano de Desarrollo

IICA

**www.fontagro.org**
Correo electrónico: fontagro@fontagro.org