**Aplicación de CRISPR/Cas9 para disminuir el pardeamiento enzimático en tubérculos de *Solanum tuberosum* L.**

Gonzalez MN 1, 2, Massa GA 1, 2, 3, Castellote MA2, Décima Oneto CA 2, Storani L2,4, Feingold SE2

1. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). 2. Laboratorio de Agrobiotecnología INTA-EEA Balcarce. 3. Facultad de Ciencias Agrarias – UNMdP. 4. Fundación Bunge y Born.

Las Polifenol oxidasas (PPO) son enzimas que catalizan la conversión de mono-fenoles a orto-difenoles y de orto-dihidroxifenoles a orto-quinonas. Estos compuestos reaccionan con aminoácidos de proteínas celulares produciendo pigmentos negros o marrones, los cuales producen una pérdida de calidad nutricional en frutos y vegetales (Thygesen *et al.*, 1995). Este proceso, conocido como pardeamiento enzimático, representa un problema importante en la producción de papa (*Solanum tuberosum* L.) durante los procedimientos de cosecha y pos cosecha (manipulación, almacenamiento y distribución), donde el tejido del tubérculo puede resultar dañado, lo cual desencadena las reacciones mencionadas anteriormente.

El sistema de edición génica CRISPR/Cas9, se ha convertido en una de las herramientas más importantes no solo para la genómica funcional, sino también para el mejoramiento de cultivos de consumo humano (Pacher y Puchta, 2016).

En papa, las PPO se encuentran codificadas por una familia multigénica de al menos 9 genes (Chi *et al*., 2014), cada uno responsable de la expresión de forma tejido-específica.

Con el objetivo de obtener plantas con supresión de la actividad de PPO en tubérculo, se llevó a cabo la identificación de los genes de PPO en *Solanum tuberosum* L. utilizando una interfase para el manejo de datos genómicos desarrollado por el Laboratorio de Agrobiotecnología. Los genes responsables de la expresión de PPO en tubérculo fueron secuenciados en los cultivares blancos de edición. Posteriormente, se llevó a cabo el diseño de los ARNs guías con sitios *target* en los genes de PPO candidatos y se obtuvieron los vectores necesarios para su expresión en papa. Estas construcciones fueron introducidas mediante *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 y GV3101 en explantos de plántulas cultivadas *in vitro*, para la obtención de transgénicas que expresen la maquinaria de edición.

Al momento de redacción del presente resumen, se están obteniendo las primeras plantas regeneradas a partir de la transformación. Este trabajo, establece un *pipeline* de los primeros pasos necesarios para la obtención de plantas con disminución de la actividad de PPO en tubérculo mediante el sistema CRISPR/Cas9 y puede ser aplicado para establecer estrategias para otros genes y especies vegetales.