

# Universidad de Costa Rica

## Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular

### Escuela de Biología

# Innovación en el mejoramiento vegetal: edición de genomas en arroz en Costa Rica

XIV Conferencia Internacional de Arroz para América Latina y el Caribe y la 9na. Conferencia Internacional de Pyricularia en Arroz y Trigo

10 al 14 de junio de 2024



Dr. Andrés M. Gatica Arias  
[andres.gatica@ucr.ac.cr](mailto:andres.gatica@ucr.ac.cr)





# Importancia y situación del cultivo de arroz

- El **arroz** es el principal cereal de consumo para **3 500 millones de personas** alrededor del mundo.
- El comercio mundial para 2020-2021 se estimó en 48 millones de tm, y para 2021/2022 se pronostica un **consumo per cápita** de 54.2 Kg (CONARROZ 2021).
- En **Costa Rica** para el periodo **2020/2021** la producción nacional fue de **152 721 toneladas métricas de arroz** con un **consumo per cápita que ronda los 47 kg**, valores que revelan la importancia de este cereal en la dieta de los costarricense convirtiéndolo en un elemento fundamental de la seguridad alimentaria y el cual puede recibir los efectos adversos del cambio climático (CONARROZ 2021).





# ¿Cuál es la problemática?

La productividad de los cultivos (entre ellos el arroz) se ve afectada por alta salinidad, sequía, frío y altas temperaturas.

A. Hernández-Soto et al.

Current Plant Biology 27 (2021) 100211

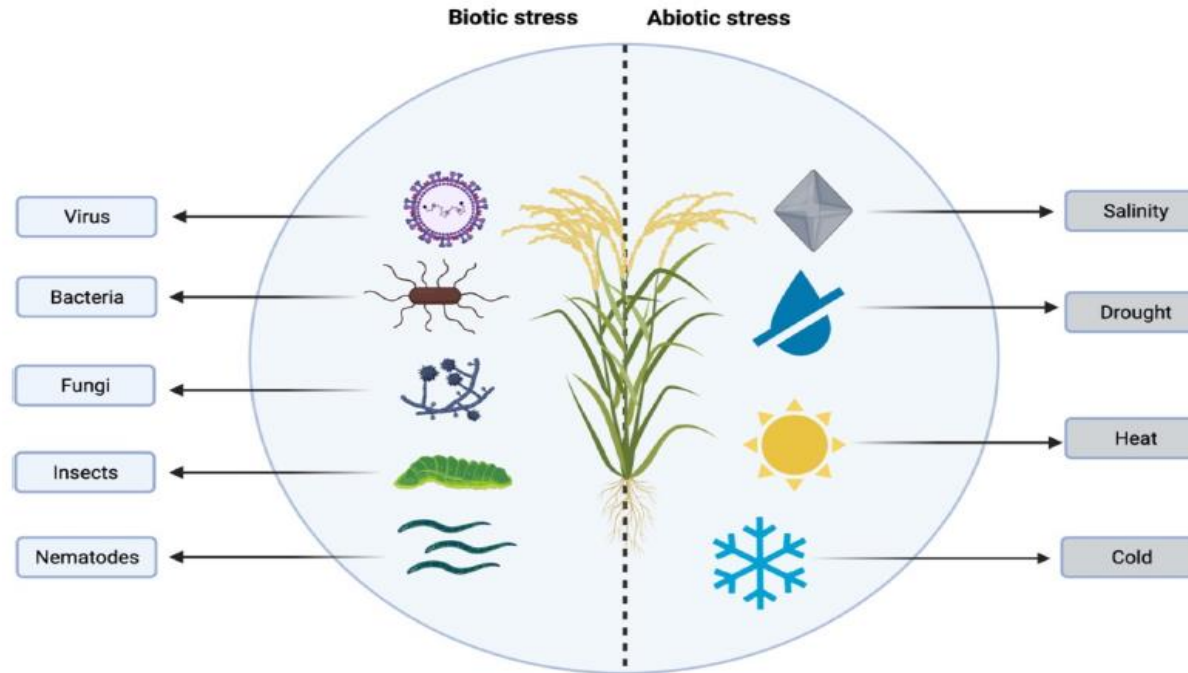


Fig. 1. Representation of biotic and abiotic stress factors that affect rice production. Created with BioRender.com.

Hernández-Soto et al. (2021). Current Plant Biology. 27:1-15. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100211>.



## ¿Cuál es la problemática?

- Afectan la **supervivencia**, la **biomasa**, la **producción** y el **rendimiento de los cultivos alimentarios básicos** y constituyen una **amenaza a la seguridad alimentaria**.
- En el mundo más de **80 millones de hectáreas** de las tierras irrigadas (que representan el 40% del total del área terrestre) han sido afectadas por la **sal** (Xiong y Zhu 2001).
- El área bajo **estrés salino** aumenta debido a factores como el **cambio climático**, el **aumento del nivel del mar** y el **riego excesivo sin drenaje adecuado**.
- **¿Cómo conferir tolerancia/resistencia a la salinidad y sequía al arroz?**

Hernández-Soto et al. (2021). *Current Plant Biology*. 27:1-15. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100211>.

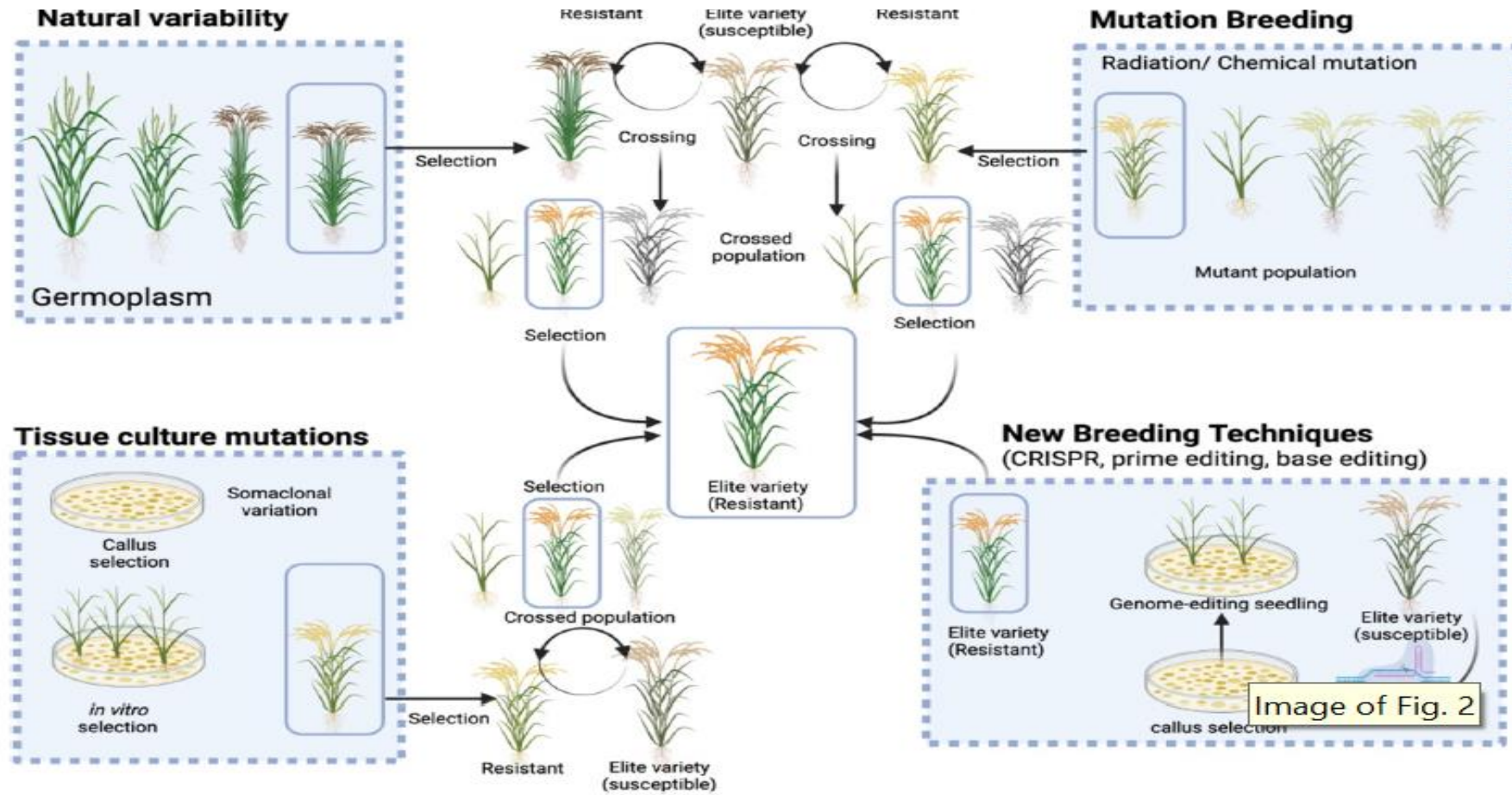


Fig. 2. Schematic representation of different systems used for breeding rice: natural variability, mutation breeding, tissue culture mutation, and new breeding techniques. Created with BioRender.com.



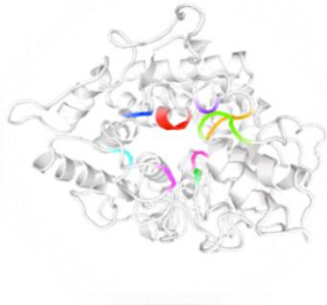
## ¿Cuál es la estrategia?

- La **trehalosa**, es un azúcar que **protege a las proteínas y las membranas celulares** de la desnaturalización causada por una variedad de condiciones de **estrés biótico** (sequía, salinidad).
- La falta de **acumulación de trehalosa** en la mayoría de las especies vegetales se ha atribuido en parte a la presencia de una **trehalasa activa (cataliza la degradación de trehalosa en glucosa)**.
- ¿Cómo lograr la acumulación de trehalosa en las plantas?
  - Sobreexpresión de los genes T6P y TPS
  - Inhibición de la enzima trehalasa
- En **arroz GM**: el **aumento de la acumulación de trehalosa** mostró un mayor nivel de **tolerancia a la salinidad, sequía y a baja temperatura**, en comparación con las plantas no transformadas genéticamente (Garg et al. 2002).





# Nuestro proyecto en Costa Rica



Trehalase gene editing for drought and salinity resistance

Communicating gene editing

Genome editing in rice

Public perception

Regulation framework in Latin America



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
 ESPACIO DE ESTUDIOS AVANZADOS DE LA UNIVERSIDAD DE COSTA RICA (ESCA)

PROYECTO DE EDICIÓN DEL GENOMA DE ARROZ, ALTERNATIVA PARA CONTRIBUIR A LA MITIGACIÓN DEL CAMBIO CLIMÁTICO Y UNA CONTRIBUCIÓN AL LOGRO DE LA SOSTENIBILIDAD ALTERNATIVA (Abril del 2019)

¿Está de acuerdo con el uso de organismos transgénicos?

¿LA RESPUESTA ES NEGATIVA, ENTONCES DIGA:  
 Lo siento, comparto un número apropiado: F.MARQUEZ AL FUNDADO CORRECTAMENTE.  
 ¿ESTÁ DE ACUERDO CON EL USO DE ORGANISMOS TRANSGÉNICOS? DIGA:  
 Lo siento, lleve al lugar apropiado. F.ANOTE EN LA BUSTA DE CONTROL EL CÓDIGO X

¿LA RESPUESTA ES POSITIVA, ENTONCES DIGA:  
 Buenos días (o buenas tardes). Mi nombre es \_\_\_\_\_ y estoy interesado de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Costa Rica porque anhelo obtener un título en ciencias sobre aspectos relacionados con ciencia y tecnología. Deseo aprender a sus manos prácticas en la universidad que tenga el día a día y que sea una profesión a largo plazo. ¿Puedo ser parte?

¿LA RESPUESTA ES NEGATIVA, ENTONCES DIGA:  
 ¿LA RESPUESTA ES NEGATIVA, PRESENTE. ¿No puede comunicarse con el comité?  
 ¿LA RESPUESTA ES NEGATIVA, PRESENTE. ¿No puede hablar a guisa de un grado licenciado? F.ANOTE EN LA BUSTA DE CONTROL EL CÓDIGO DE SU LA BUSTA EN SU RESPUESTA

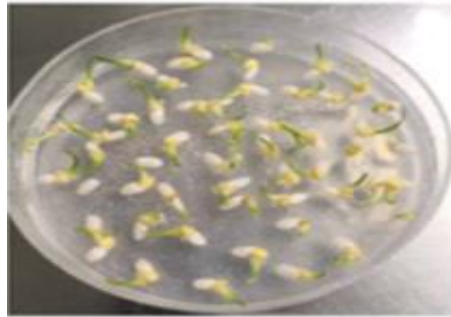
¿PUEDE VER QUE SE HA CONTACTADO CON LA PERSONA SE RESPONSABIL EN EL BUSTO DIGA:  
 Buenos días (o buenas tardes). Mi nombre es \_\_\_\_\_ y la estoy llamando de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Costa Rica porque anhelo obtener un título en ciencias sobre aspectos relacionados con ciencia y tecnología. Solo le quiero avisar que estoy interesado y ya participo en actividades. Además, le agradeceré que me permita visitar a su día y separarme con la siguiente. Agradeceré de corazón su colaboración. ¿Puede enviarme la información?

CURSO	SE	Siglo	1. Ingeniería
SECCION		Ramo	2. Ramo del Curso
			3. Ramo del pos
INSTITUCION		REG	REG. Tuitivo
CIUDAD		REG	
FECHA		Entrevistador(a)	
CIUDAD			
MI			

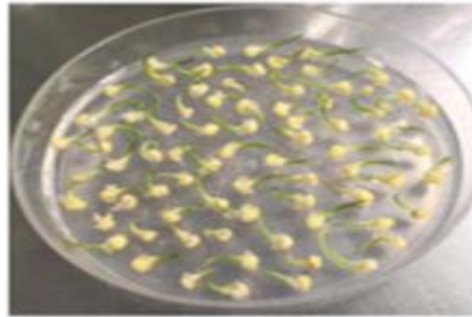




# Cultivo *in vitro*



Precultivo



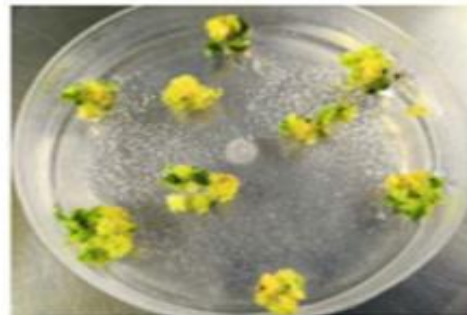
Inducción de callo



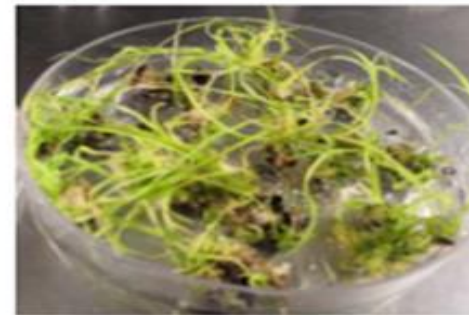
Selección 1 en Hg



Selección 2 en Hg



Regeneración



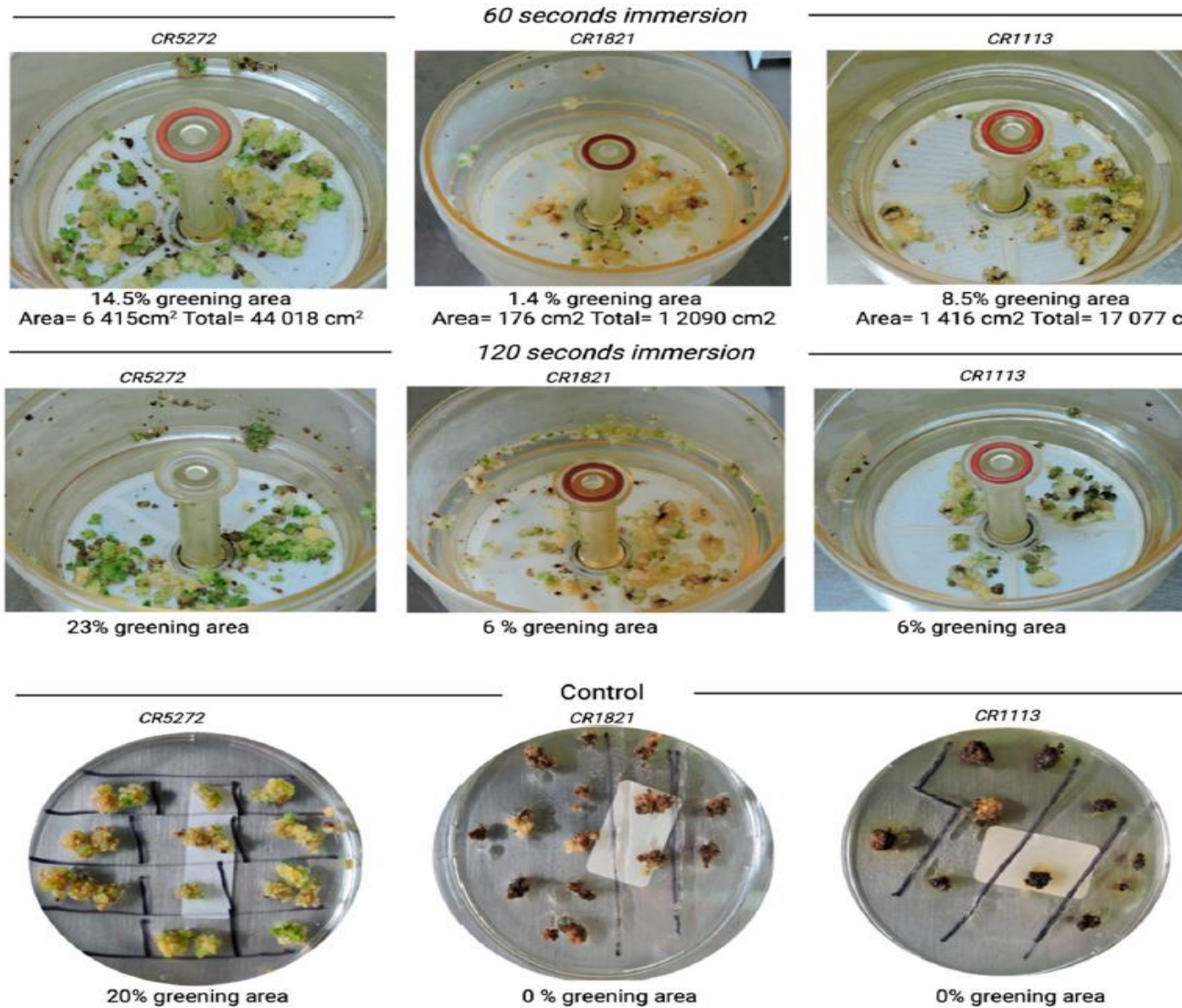
Enraizamiento

subsp. *japonica*



# Cultivo *in vitro*

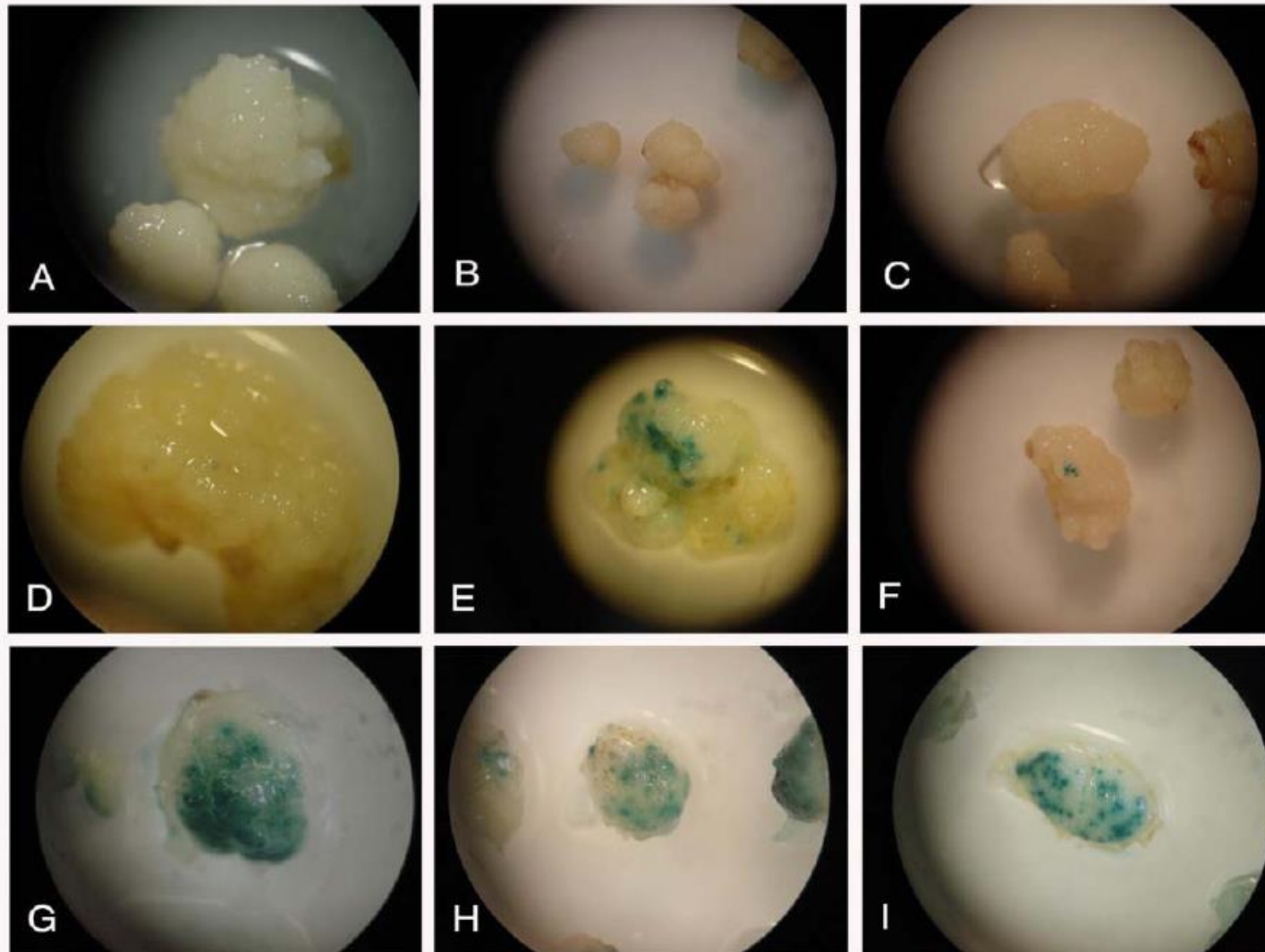
Hernández-Soto (2022) <https://doi.org/10.3390/Plants11030375>



subsp. *indica*

# Transfromación genética

Aguilar-Bartels et al. (2021) Agron. Mesoam. 32(3):764-778

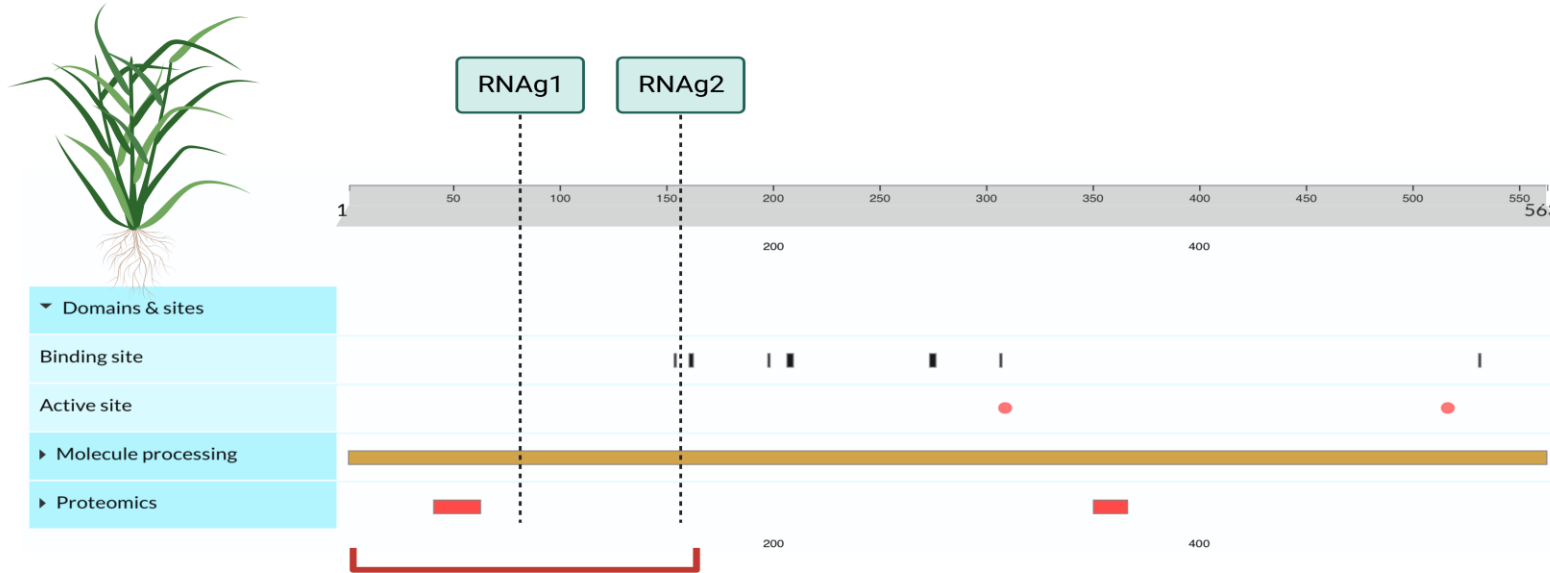


Control

*Agrobacterium tumefaciens*

Biobalística

# Edición trehalasa en Nipponbare



**35s:** Promoter 35S

**Hptt:** Hygromycin Phosphotransferase (*hptII*) Gene

**E9:** Rbcs-E9 terminator.

**Ubit int:** ubiquitin promoter.

**Cas9wt:** Cas9

**NOST:** Nos terminator.

**U60sC4P:** U60s promoter

**RNAg:** binding site

**RNAg Scaffold**

**U60-C4T:** U60s terminator

Unpublished



# Edición trehalasa en Nipponbare

Trehalase-sgRNA1: GCCTCCATCTCGCCCTCGA**CGG**

Trehalase-sgRNA2: GACTTCGAGCGCGACCC**CGG**

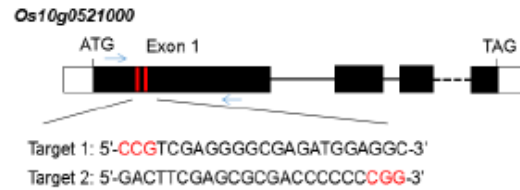


Figure 1. Sequence of the target site in the first exon of *trehalase* gene

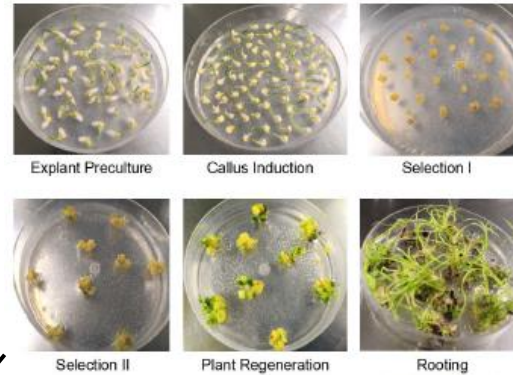
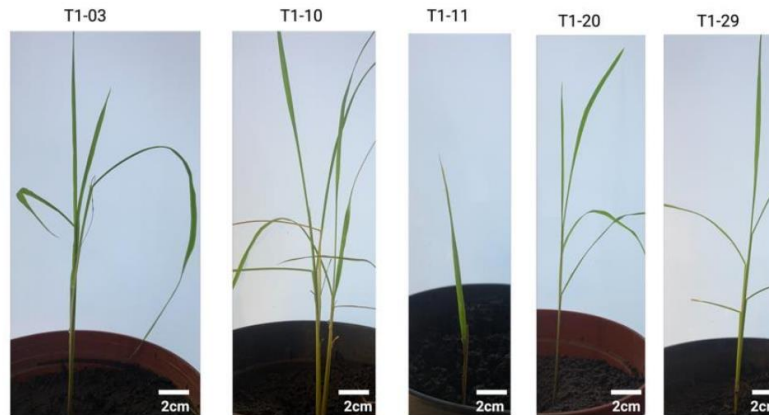


Figure 3. *Agrobacterium*-mediated rice transformation.



# Edición trehalasa en Nipponbare

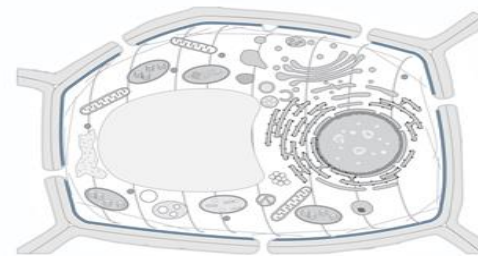
A)



B)

**Table 1.** Percentage of survival of OsTre1Mutants to 200mM NaCl

	Control	200mM NaCl	Tolerance
T1-17	86,0 (1/7)	86,0 (1/7)	High
T1-10	88,8 (1/9)	80,0 (2/10)	Medium
T1-6	88,2 (2/17)	83,3 (3/18)	Medium
T1-3	77,7 (2/9)	70,0 (3/10)	Low
T1-11	100,0 (0/4)	50,0 (2/4)	Low
T1-19	81,8 (2/11)	62,5 (3/8)	Low
WT	71,4 (2/7)	40,0 (6/10)	Null



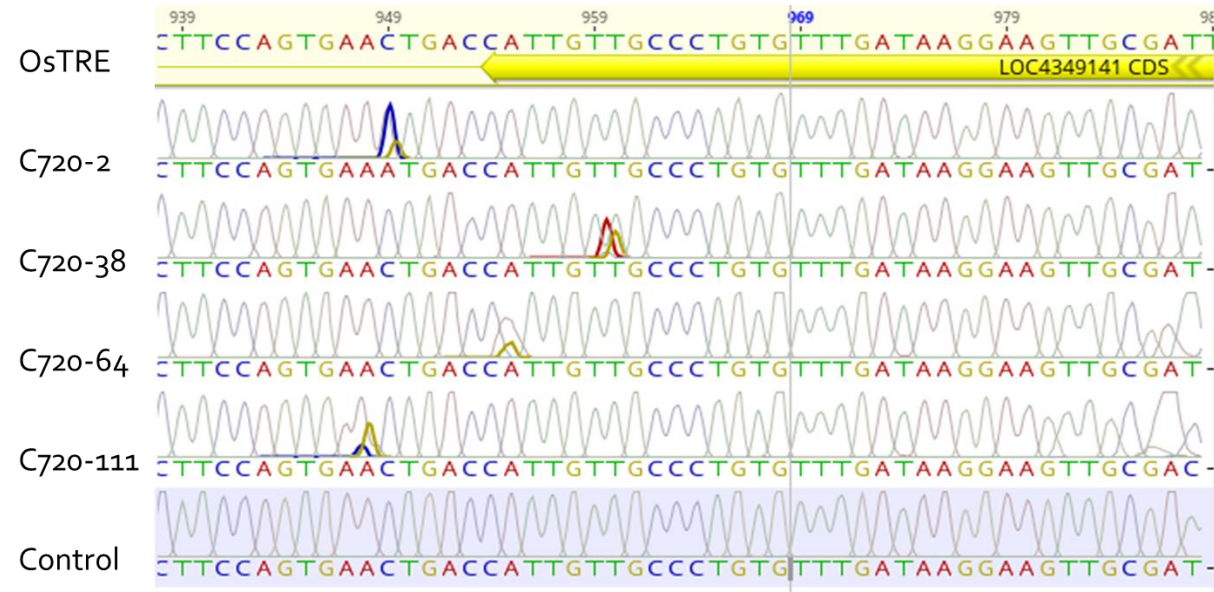
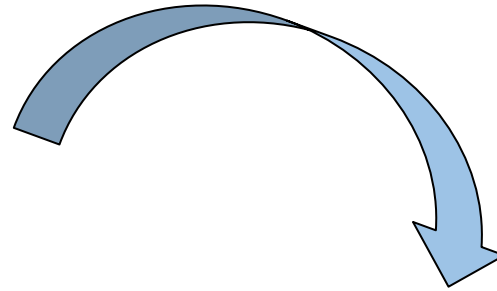
Unpublished



# Edición genética *in planta*



T0



Eficiencia de edición

$$(4/17) = 23,5\%$$

$$(4/96) = 4,2\%$$

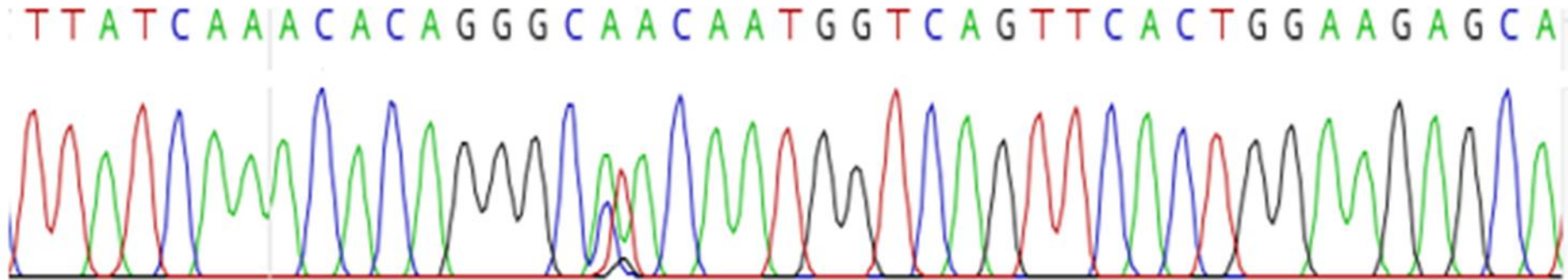
Unpublished



# Edición genética *in planta*

C720-38

5'-TTATCAA|CACAGGGCAACAATGGTCAGTTCACTGGAAGAGC-3' OsTRE1  
5'-TTATCAA|CACAGGGCCTACAATGGTCAGTTCACTGGAAGAGC-3' OsTRE1 1387A>C y OsTRE1 1387\_1388insT



- Mutación Heterocigota
- Planta Quimérica



# Percepción de la edición genética: Costa Rica

**Table 2**

What is your level of agreement with GE being used for the following?

Scenario	Against (%)	Neither in favor of, nor against (%)	In favor of (%)	I don't know/choose not to respond (%)
To produce climate proof food	23	2	67	8
To save animal species in danger of going extinct	14	0.6	77	8
To eliminate mosquitoes as disease vectors	10	1	82	8
To reduce the use of fertilizers in agriculture	11	2	79	9
To create animal species with different characteristics	67	3	22	9
To prevent birth defects	16	1	74	9
To produce food resistant to pests	14	0.6	77	9
To cure diseases in animals	7	2	83	9
To eliminate antibiotic resistant diseases	6	0.7	84	9
To produce food with a better nutritional profile	12	1	78	9
To solicit babies with specific characteristics like gender, eye colour, intelligence, etc.	72	0.7	18	9

Note: Against = Very against + Against; In favor of = In favor of + Very in favor of.

Macall et al (2023) <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19173>



# Percepción de la edición genética: Costa Rica

**Table 3**

Expected benefits once GE is available in Costa Rica.

Expected benefit	Against (%)	Neither in favor of, nor against (%)	In favor of (%)	I don't know/choose not to respond (%)
Agricultural productivity will increase	14	3	68	15
Will benefit animals in the country	14.3	3	68	15
It will improve the health of Costa Ricans	15	3	68	14
The nutritional profile of food will increase	13	4	70	14

Note: Against = Very against + Against; In favor of = In favor of + Very in favor of.

**Table 4**

Perception of potential risks of GE by Costa Rican consumers.

Potential risk	None (%)	Low (%)	Medium (%)	High (%)	Don't know/No answer (%)
Risk of harming animal quality of life	19	37	4	24	16
Risk of producing environmental damage	19	4	4	25	16
Risk of agricultural products harming human health	19	35	3	28	16
Risk of negative effects on descendants	18	36	3	27	18

Macall et al (2023) <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19173>



# Percepción de la edición genética: Costa Rica

**Table 5**

Scenario under which Costa Ricans would consume GE rice or beans.

Scenario	Yes	No	Don't know/No answer
If they were available in the country	52	38	10
If the price was the same to conventional rice or beans	65	26	9
If the nutritional value was better than conventional rice or beans	70	21	9

Macall et al (2023) <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19173>



Foro “Edición de Genomas en Cultivos Tropicales: perspectivas para países en desarrollo” (julio 2017).



Foro «Biotecnología y su importancia para Costa Rica» (marzo, 2018)



Foro “Nuevas biotecnologías (CRISPR/Cas9): perspectivas para la agricultura y la salud en Costa Rica (julio, 2018)



Curso teórico: «Introducción a la edición de genomas mediante la tecnología CRISPR/Cas9» (julio, 2018)





Dra. Marta Valdez, Lic. Karla Corrales, Dr. Stefan Schillberg, Dr. Andres Gatica, M.Sc. Griselda Arrieta, M.Sc. Alejandro Hernandez



Dr. Federico Albertazzi



M.Sc. Johnny Madrigal



Randall Rojas



Dr. Matias Romero



Lic. Daglich Medina



M.Sc. Elsy Vargas



**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA**







Contents lists available at ScienceDirect

Heliyon

journal homepage: [www.cell.com/heliyon](http://www.cell.com/heliyon)



Article

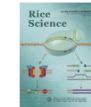
## NTH2 1271\_1272delTA Gene Disruption Results in Salt Tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*

Alejandro Hernández-Soto <sup>1,\*</sup>, José Pablo Delgado-Navarro <sup>2</sup>, Miguel Benavides-Acevedo <sup>3</sup>, Sergio A. Paniagua <sup>4</sup> and Andrés Gatica-Arias <sup>3,5,6</sup>

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

ScienceDirect

Rice Science, 2019, 26(5): 265–281



## Costa Rican consumer perceptions of gene-editing

Diego Maximiliano Macall <sup>a,\*</sup>, Johnny Madrigal-Pana <sup>b</sup>, Stuart J. Smyth <sup>c</sup>, Andrés Gatica Arias <sup>d</sup>

Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)  
<https://doi.org/10.1007/s11240-020-01799-1>

REVIEW



## The regulatory current status of plant breeding technologies in some Latin American and the Caribbean countries

Andrés Gatica-Arias <sup>1,2</sup>

Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)  
<https://doi.org/10.1007/s11240-019-01647-x>

ORIGINAL ARTICLE



Review

## CRISPR/Cas9: Development and Application in Rice Breeding

Andrés GATICA-ARIAS

Faculty of Biology / Research Center in Cellular and Molecular Biology, University of Costa Rica (many)



## Consumer attitudes toward food crops developed by CRISPR/Cas9 in Costa Rica

Andrés Gatica-Arias <sup>1,2</sup>, Marta Valdez-Melara <sup>1</sup>, Griselda Arrieta-Espinoza <sup>2</sup>, Federico J. Albertazzi-Castro <sup>2</sup>, Johnny Madrigal-Pana <sup>3</sup>

Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) (2020) 140:215–244  
<https://doi.org/10.1007/s11240-019-01707-2>

REVIEW

## ATTITUDES TOWARDS GENOME EDITING AMONG UNIVERSITY STUDENTS IN COSTA RICA

Ciencia y Tecnología, 35(2): 1-13, 2020  
ISSN: 2215-5708

Alejandra Arias-Salazar <sup>1,2</sup>, Johnny Madrigal-Pana <sup>1,2</sup>, Marta Valdez-Melara <sup>3</sup> & Andrés Gatica-Arias <sup>3,4\*</sup>



## Use of genome editing technologies for genetic improvement of crops of tropical origin

Randall Rojas-Vásquez <sup>1,3</sup>, Andrés Gatica-Arias <sup>1,2</sup>

# Universidad de Costa Rica

## Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular

### Escuela de Biología

# ¡Muchas gracias por su atención!

**Por favor agradecemos su ayuda a participar en encuesta sobre edición de genomas**

