Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA

CONVENIO DE VINCULACION TECNOLOGICA
Entre INIA y la Universidad de la República

POR UNA PARTE: el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, (en adelante INIA), con domicilio a estos efectos en Ruta 50 Km 11, departamento de Colonia, representado en este acto por el Dr. Alvaro Roel en su calidad de Presidente, y **POR OTRA PARTE**: la Universidad de la República, a través de la Facultad de Ciencias (en adelante, el Ejecutor), con domicilio en Iguá 4225, Montevideo, representado en este acto por el Dr. Rodrigo Arocena, acuerdan en celebrar el presente Convenio:

1°. Antecedentes

I.- El INIA realizó un llamado a interesados en presentar propuestas de investigación, relativas al sector agropecuario, a ser financiado a través del Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (en adelante, FPTA) de dicho Instituto.

II.- El Ejecutor, en respuesta a dicho Llamado, presentó su Propuesta.

III.- Por resolución de la Junta Directiva de INIA N° 4203/13, de fecha 6 de noviembre de 2013, luego de realizar un análisis exhaustivo de la pertinencia y calidad de las propuestas formuladas para el llamado FPTA 2012, se resolvió aprobar el financiamiento del Proyecto del Ejecutor.

IV.- En su mérito, procede formalizar el presente Convenio de Vinculación Tecnológica.

2°. Objeto

El INIA y el Ejecutor se vinculan con el propósito de llevar a cabo el Proyecto conjunto cuyo título es ***"Biotecnología aplicada al mejoramiento genético de las soja"***, (en adelante "el proyecto") conforme a la Propuesta presentada (Anexo 1) y ajustado a lo expresado en el presente Convenio. Los Términos de Referencia del Técnico Responsable del Proyecto (Anexo 2) y el Acuerdo con Terceros (Anexo 3), se adjuntan y forman parte de este Convenio.

3°. Monto total del Proyecto

El INIA aportará la suma de **U$S 126.500** (dólares americanos ciento veintiseis mil, quinientos), con recursos provenientes del Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria, creado por el artículo 18 de la ley 16.065 de 6 de octubre de 1989 y en la Resolución Nº 89/91 de 30 de julio de 1991 de la Junta Directiva del INIA. Un 10 % (diez por ciento) de este monto, se destinará al financiamiento de gastos de análisis, supervisión y seguimiento del Proyecto.

4. Plazo

El presente Convenio tendrá una vigencia de **43** meses a partir del día **2 de Mayo de 2014**. En caso de no finalizar el proyecto en el período estipulado, la posibilidad de su prórroga será prerrogativa del INIA. A los efectos, el INIA evaluará la ejecución global técnico- financiera del mismo una vez finalizado el plazo previamente establecido. La prórroga que eventualmente pueda disponerse por parte de INIA no excederá el término de seis meses.

5°. Contraparte técnica del INIA

El INIA integrará una Contraparte constituida por:

- La Gerencia Programática-Operativa, que nucleará la información y documentación respecto al avance y logros del Proyecto, y coordinará la ejecución técnica con la financiera.
- La Gerencia de Administración y Finanzas, que analizará y evaluará la administración y ejecución financiera del Proyecto.
- Uno o más especialistas en el área de investigación objeto de este Convenio, que supervisarán y evaluarán la marcha e informes técnicos del Proyecto.

6°. Obligaciones del Ejecutor

El Ejecutor declara conocer y aceptar todas condiciones, requisitos y procedimientos del Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria y, en particular, se obliga a:

I. Cumplir el objetivo general y los objetivos específicos, desarrollar las actividades programadas y alcanzar sus resultados esperados, de acuerdo al documento del Proyecto y cronograma de ejecución técnico y presupuestal del mismo.

II. Tomar los recaudos necesarios y ponerlos a disposición de INIA para que éste pueda proceder al registro o protección de los productos y o procesos susceptibles de amparo jurídicos, que eventualmente puedan resultar de la investigación o estudio objeto de este Convenio.

III. Preparar y entregar a INIA los documentos que a continuación se indican, los que serán analizados para su aprobación por la Contraparte técnica mencionada en la cláusula 5ta:
   a) Un informe de avance semestral al 30 de Junio y 31 de Diciembre de cada año, donde se detallará el estado de ejecución del proyecto. Deberán incluirse en el mismo los avances obtenidos hasta ese momento, con las observaciones que se consideren pertinentes.
   b) Un Informe Final del Proyecto, según pautas fijadas por INIA, que recoja toda la información científica generada y los resultados del Proyecto, sin perjuicio de los datos e informes parciales que durante la ejecución del mismo se recaben.
   c) Preparar y entregar a INIA toda la información requerida para ejercer los derechos de propiedad intelectual y proceder al registro o protección de los productos y o procesos que puedan resultar de la investigación o estudio objeto de este convenio.
   d) Un documento para publicar, de acuerdo al formato propuesto por INIA. El mismo deberá ser presentado en forma conjunta con el Informe Final. La entrega de este artículo y el Informe Final serán condición previa para el último desembolso del proyecto. El INIA podrá publicar el mencionado documento con cargo al Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria.

IV. Rendir cuentas por los fondos recibidos de INIA, de conformidad con lo previsto en la cláusula 8ª.

V. Recabar el compromiso de los terceros previstos en su propuesta (instituciones, tesistas, evaluadores de tesis, consultores u otras figuras vinculados al Proyecto), mediante la firma del Compromiso que se adjunta al presente Convenio como Anexo 3, debiéndolo entregar a INIA a efectos de habilitar los desembolsos.

VI. En caso de requerir la participación de un tercero no previsto en la propuesta, el Ejecutor deberá recabar la previa aceptación expresa de INIA. Una vez aprobado, el Ejecutor deberá recabarle su compromiso mediante la firma del Anexo 3. El incumplimiento de alguno de estos requisitos habilita a INIA a suspender los desembolsos hasta tanto los mismos sean subsanados.

7°. Seguimiento del Proyecto

El INIA queda expresamente facultado para:

A. Reunir periódicamente a los responsables de la ejecución de la o las organizaciones intervinientes en el Proyecto, para que presenten y examinen los trabajos en marcha o cuya ejecución se propone.

B. Efectuar el seguimiento, control y evaluación de las actividades previstas y establecer el grado de avance del Proyecto. Para ello, podrá solicitar información referida a resultados alcanzados y objetivos cumplidos, ejecución financiera y cumplimiento del programa presupuestal, disponibilidad de fondos, así como cualquier otra información que considere pertinente sobre el desarrollo del mismo.

8°. Administración y ejecución financiera

Constituyen el marco financiero del Convenio, los procedimientos que con relación al programa presupuestal, a continuación se mencionan.

A. Administrador. Previo a efectuarse los desembolsos por parte de INIA, el ejecutor deberá identificar a la persona o entidad responsable de la administración de los fondos que le sean otorgados como consecuencia del presente Convenio.

B. Desembolsos

- En oportunidad de cada desembolso que efectúe el INIA, las contrapartes librarán el recibo oficial correspondiente.
- El INIA desembolsará un 85% del monto total aprobado al Proyecto. Constituirá un Fondo Rotatorio para cubrir los gastos relacionados con la ejecución del Proyecto. El mismo no excederá del 15% sobre el monto aprobado. Para obtener el desembolso de los recursos remanentes, el Ejecutor deberá presentar las correspondientes rendiciones finales de la utilización del Fondo Rotatorio. El INIA desembolsará hasta la suma debidamente rendida presentada en tal instancia. La fecha límite correspondiente a este último desembolso será determinada por I.N.I.A..
- El INIA podrá ampliar o renovar el Fondo Rotatorio si así se le solicita justificadamente, a medida que se utilicen los recursos; asimismo podrá reducirlo o cancelarlo en el caso que determine que los recursos suministrados exceden las necesidades del Proyecto.
- Tanto la constitución como la renovación del Fondo Rotatorio se considerarán desembolsos para los efectos de este Contrato.
- En los proyectos en donde se requiera la participación de terceros, INIA se reserva el derecho a no efectuar los desembolsos hasta tanto el Ejecutor no remita el Compromiso firmado por esos terceros (Anexo 3). Del mismo modo, en caso de que el Ejecutor requiera la participación de terceros no previstos en la Propuesta, INIA podrá suspender los desembolsos hasta tanto no se cuenta con la aprobación expresa y con la firma del Compromiso (Anexo 3).
- Se podrá suspender los desembolsos al Ejecutor, hasta tanto no se dé cumplimiento a lo dispuesto con relación a las obligaciones del mismo, establecidas en las cláusulas 6ª y en la presente, de este Convenio, incluyendo la justificación en forma

razonable del uso de fondos de este financiamiento. Asimismo, será causal de suspensión de desembolsos, el surgimiento de circunstancias extraordinarias que a juicio de INIA, hagan improbable que el Ejecutor pueda cumplir las obligaciones contraídas en dicho Convenio, o que no permitan satisfacer los propósitos que se tuvieron en cuenta al celebrarlo.

- A menos que se haya acordado con el Ejecutor, expresamente y por escrito prorrogar los plazos para efectuar los desembolsos, la porción del Fondo que no hubiere sido comprometida o desembolsada, según sea el caso, dentro del correspondiente plazo, quedará automáticamente cancelada.
- El INIA podrá efectuar desembolsos a su vez, mediante pagos por cuenta de los Ejecutores y de acuerdo con él, por sumas no inferiores a U$S 5.000 (dólares americanos cinco mil), o mediante otro método que las partes acuerden por escrito.

C. Rendiciones de cuentas

- Las rendiciones de cuentas de los fondos provistos por el Financiamiento y los Ejecutores, que se presenten durante la ejecución del Proyecto, deberán cumplir con las formalidades establecidas.
- Al 30 de Junio y 31 de Diciembre de cada año, el ejecutor deberá presentar un estado financiero, donde se detallará la ejecución presupuestal, conjuntamente con la rendición de cuentas completa a esa fecha. El plazo para la presentación de este informe, que resulta indispensable para el trabajo de evaluación de la auditoría externa, será de 20 días corridos.
- Los eventuales cambios de rubros en el presupuesto originalmente aprobado, deben ser debidamente justificados y obtener aprobación por la Contraparte, previamente a su consideración en la rendición de cuentas respectiva.

D. Auditorías

El INIA podrá disponer la realización de auditorías financiero - contables y de gestión de los proyectos, si así lo entendiere conveniente.

E. Responsabilidad administrativa en materia financiero - contable.

El Ejecutor declara que para la implementación de las actividades en materia financiero-contable que conlleva el presente Convenio de vinculación tecnológica observará las disposiciones legales y reglamentarias vigentes en la materia, particularmente el Texto Ordenado de Contabilidad y Administración Financiera (TOCAF) y Normas de Conducta en la Función Pública (Decreto 30/003). Cualquier apartamiento a estas disposiciones que pudiera eventualmente producirse será de exclusiva responsabilidad del Ejecutor

F. Bienes adquiridos en el marco del Proyecto.

Los bienes que se financien con recursos provenientes de fondo de Promoción de tecnología Agropecuaria, se dedicarán exclusivamente para los fines del Proyecto, y deberán ser adquiridos a nombre de INIA, y serán propiedad de éste. La Junta Directiva del INIA tiene la potestad de transferir los mismos al Ejecutor del Proyecto, a título comodato u otro que convengan, si así lo entendiere conveniente, una vez finalizado y aprobado el informe final y entregado el artículo para publicar referido en la cláusula 6.III.d. y el informe de cierre elaborado por las Contraparte.

9°. Responsabilidades laborales

El presente convenio no implicará, de ninguna manera, el reconocimiento de derechos laborales, sociales, previsionales, de la seguridad social ni ningún otro a favor de los recursos humanos por una de las partes con relación a la otra, de manera que en todo momento los recursos humanos involucrados en la ejecución del Proyecto mantendrán su relación contractual solamente con la entidad signataria del presente con la cual

establecieron originalmente su vinculación, aún en caso de desarrollar tareas de investigación en lugares físicos pertenecientes a la otra, por lo cual las partes se comprometen a mantenerse recíprocamente indemnes en estos temas. Para el caso que la persona se desempeñare originalmente en ambas entidades, su relación para con cada una de ellas continuará en forma independiente, no implicando este acuerdo modificación alguna al respecto.

En mérito a lo precedentemente expresado, será obligación exclusiva del Ejecutor, atender los requerimientos de los recursos humanos que por su cuenta implique en la ejecución del Proyecto, ya sean personales o del Banco de Previsión Social, Ministerio de Trabajo y Seguridad Social, Banco de Seguros del Estado o de cualquier otro organismo público y/o privado.

Los recursos humanos que el Ejecutor requiera para la realización del proyecto, deberá ser debidamente documentada a través de los instrumentos legales que correspondan , registrando en términos expresos todas las obligaciones contenidas en el presente Convenio , en especial la confidencialidad y protección de los resultados. Esta documentación deberá acreditarse ante INIA en oportunidad de rendir gastos por este concepto.

El INIA se reserva el derecho de exigir al Ejecutor, antes de efectuar la entrega de cualquier suma que le corresponda bajo el presente Convenio, que justifique que sus integrantes se encuentran al día en el pago de sus obligaciones laborales y de seguridad social. En caso que el Ejecutor no justifique lo antedicho dentro del plazo de cinco días corridos contados desde el pedido formulado por INIA, éste tendrá derecho a retener la suma que corresponda hasta la justificación que deberá hacer el Ejecutor a satisfacción de INIA.

10°. <u>Participación de terceros</u>

Fuera de los casos previstos en la Propuesta, el Ejecutor no podrá subcontratar ni ceder, total ni parcialmente, ninguna de las obligaciones que son puestas a su cargo en virtud del presente contrato, salvo que cuenta con el previo consentimiento expreso de INIA.

En todos los casos en que el Ejecutor requiera la participación de un tercero (ya sea por estar previsto en la propuesta o por ser admitido por INIA posteriormente), será obligación del Ejecutor recabarle la ratificación del presente Convenio, mediante la firma del Compromiso que se adjunta como Anexo 3. La omisión de dicho requisito habilita a INIA a retener los desembolsos al Ejecutor, hasta tanto se cumpla en formalizar dicha ratificación.

11°. <u>Rescisión</u>

El presente Convenio podrá ser rescindido de común acuerdo entre las partes.

El INIA podrá rescindir, en forma administrativa y sin necesidad de declaración judicial, el convenio de vinculación tecnológica cuando se hubieren constatado incumplimientos o violaciones de cualquiera de las cláusulas establecidas, previa comunicación escrita y luego que la otra parte no hubiere remediado dicho incumplimiento dentro de los treinta días de recibida la comunicación del mismo por medio fehaciente.

En caso de verificarse la rescisión del presente Convenio de Vinculación Tecnológica los árbitros (clausula 18) previstos en el presente Convenio, analizará y laudarán respecto a las compensaciones, daños y perjuicios, así como respecto a cualquiera otra situación no prevista en el Convenio que amerite ser laudada a consecuencia de la rescisión.

12°. Propiedad intelectual

Los resultados, productos y/o procesos que puedan obtenerse en el Proyecto objeto de este Convenio, susceptibles del amparo jurídico como tales, asi como la titularidad, distribución y gastos, ha sido acordada entre las partes de la siguiente forma: 50% (cincuenta por ciento) para cada parte.

13°. Difusión de la información

El INIA tendrá derecho a una licencia sin cargo, no exclusiva e irrevocable en todos los países para traducir, reproducir y distribuir públicamente artículos científicos, informes y libros técnicos que resulten directamente del proyecto al que refiere el presente Acuerdo. Las copias distribuidas públicamente de los trabajos protegidos por derechos de autor y elaborados conforme a la presente disposición incluirán los nombres de los autores de dicho trabajo y demás participantes del proyecto, a menos que éstos expresamente soliciten no ser nombrados.

En el caso que el Ejecutor realice la difusión de la investigación a través de cualquier medio tanto oral como escrito (conferencias, docencia, ponencias en congresos, publicaciones, etc.) deberá mencionar en forma expresa la identificación de las fuentes de financiamiento del proyecto. La información a difundir deberá ser previamente revisada por el INIA, el cual si no estuviere de acuerdo con su contenido, podrá solicitar las modificaciones o aclaraciones necesarias y exigir que se mencionen las fuentes de financiamiento en forma destacada.

14°. Confidencialidad

Las Partes se obligan a manejar con absoluta reserva toda la información referida al Proyecto y aquella de propiedad de cada Parte que sea entregada en calidad de confidencialidad. A tal efecto, el Ejecutor exigirá las mismas condiciones a terceros participantes como ser instituciones, tesistas, evaluadores de tesis, consultores u otros figuras vinculados al Proyecto, mediante la firma del Compromiso adjunto al presente convenio (Anexo 3).

Durante la vigencia de este Convenio de Vinculación Tecnológica y luego de la terminación del mismo, el Ejecutor se compromete a mantener en reserva y no divulgar por cualquier medio (oral u escrito), la existencia de productos, subproductos o procesos que puedan ser apropiados, patentados o comercializados, con valor económico surgidos de la actividad del Proyecto, salvo que INIA expresamente lo autorice.

15°. Exoneración de responsabilidad

El Ejecutor se obliga a indemnizar y mantener indemne a INIA, así como a sus directores y empleados, de cualquier y toda acción, amenaza de acción, demanda o procedimiento, de cualquier naturaleza, que pueda efectuar cualquier persona física o jurídica, pública o privada, que surja como resultado de su actuación bajo el presente convenio y de la realización del Proyecto, contra cualquier y todo reclamo, gastos, pérdidas o daños (incluido los honorarios razonables de los abogados) que puedan resultar en virtud de acciones u omisiones del Ejecutor. La presente obligación comprende -principalmente y sin que signifique limitación alguna-, todo reclamo de índole laboral de parte de los que participen en las actividades del Proyecto, como de cualquier otra persona física o

jurídica vinculada o no al Proyecto, así como de cualquier reclamo que pudiera resultar a consecuencia de cualquier controversia sobre la titularidad de las innovaciones.

En tal hipótesis el INIA deberá: (i) enviar inmediatamente una notificación por escrito al Ejecutor en la que se indica la existencia del evento objeto de indemnización, (ii) proporcionar toda la información necesaria así como cooperar y asistir en la medida que ello sea razonablemente necesario para la defensa en dicha acción o reclamo, y (iii) autorizar al Ejecutor a defender o contestar dicha acción o reclamo, si lo entiende adecuado.

16°. Alcance
En cualquier circunstancia o hecho que tenga relación con este Convenio, las partes mantendrán la individualidad y autonomía de sus respectivas estructuras técnicas y administrativas y asumirán particularmente, en consecuencia, las responsabilidades consiguientes.

17°. Sanciones.
En caso de inobservancia de las obligaciones contraídas por parte de la entidad Ejecutora y/o del Técnico Responsable del Proyecto y/o de cualquier recurso humano del que se valga para la ejecución del proyecto, determinará la suspensión inmediata de los desembolsos (Cláusula 8ª literal B) y la rescisión del convenio prevista en la Cláusula 11ª. Todo ello sin perjuicio de las demás indemnizaciones que procedan de acuerdo con la normativa general y al Reglamento del FPTA

18°. Arbitraje
Toda cuestión o divergencia, reclamación o duda que surja entre las partes, referida a la interpretación, ejecución, resolución de este contrato, o que en cualquier forma se relacione con él, directa o indirectamente, será solucionada por medio de árbitros, amigables componedores, de acuerdo al procedimiento establecido en el Libro II Título VII del Código General del Proceso.

19°. Fuerza Mayor
Ninguna de las partes será responsable frente a la otra por retrasos o incumplimientos en cualquiera de las obligaciones impuestas por el presente Convenio, cuando estos incumplimientos se hubieren originados por causa de fuerza mayor fuera del control razonable y sin que medie omisión o negligencia de alguna de ellas.

20°. Comunicaciones
Todas las comunicaciones entre las partes referentes a este Convenio se efectuarán por escrito, por correo electrónico, telegrama colacionado, o carta certificada con aviso de retorno, tomándose por cumplidas cuando su destinatario las haya recibido en los domicilios denunciados en el exhorto. Las comunicaciones por fax se considerarán cumplidas si son legibles y la máquina receptora ha acusado su recibo.

21°. Competencia
En caso de controversias judiciales, las partes acuerdan quedar sometidas a la competencia de los Tribunales y Jueces del departamento de Montevideo.

22°. Contenido del Convenio

En todo lo no previsto en el presente Convenio, primará lo previsto en el Reglamento Operativo para el FPTA 2012 y las Bases del Llamado FPTA 2012 y, en su defecto, lo previsto en las Propuesta del Ejecutor, documentos que las partes admiten conocer. Existiendo contradicciones entre lo dispuesto en dichos instrumentos, primará lo previsto en el presente Contrato, en el Reglamento, en las Bases y en las Propuestas, conforme a dicho orden de prelación

23°. Otorgamiento

Para constancia se firman dos ejemplares de igual tenor en Montevideo, a los 12 días del mes de mayo de 2014.-

Dr. Alvaro Roel
Presidente
I.N.I.A.

Dr. Rodrigo Arocena
Rector
UDELAR

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
U R U G U A Y

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

10.102

Identificación del Proyecto	
Convocatoria	Llamado FPTA 2012
Código Técnico	FPTA_309
Título del Proyecto	Biotecnología aplicada al mejoramiento genético de la soja
Resumen Publicable del Proyecto	La soja es un cultivo de rentabilidad, siendo actualmente el principal cultivo en Uruguay. La necesidad de expansión de la frontera agrícola y el cambio climático global determinan que se deban incrementar los rendimientos por superficie en un contexto de variabilidad climática. Dado el impacto que la ocurrencia de estreses ambientales tiene sobre la producción de soja, cualquier esfuerzo para mejorar los rendimientos bajo estas condiciones redundará en beneficio de los productores, del medio ambiente y de la sociedad en general. La disponibilidad de cultivares con rasgos de tolerancia a estrés ambiental es casi nulo, principalmente debido a las dificultades de mejorar para caracteres complejos. Por otro lado la base genética con que se cuenta para los programas de mejoramiento de soja es estrecha, lo que dificulta la búsqueda de variabilidad cuando se desea incorporar nuevas características. En este contexto, resulta indispensable el empleo de estrategias que permitan ampliar esa variabilidad o posibiliten la mejora por incorporación dirigida de genes de interés. El proyecto busca generar las capacidades y metodologías a nivel nacional necesarias para obtener plantas de soja que hayan incorporado por transgénesis, genes de tolerancia a sequía propios de esta especie.
Líder del Proyecto	Sabina Vidal Macchi
Fecha de Inicio	01/09/2013
Fecha de Fin	31/03/2017
Presupuesto FPTA (US$)	113.850,00

Institución Ejecutora	
Institución	Facultad de Ciencias
Dirección	Iguá 4225
Teléfono	25258618
E-mail	svidal@fcien.edu.uy
Celular	099161191
Aporte Financiero del Ejecutor (US$)	8,500.00

Aporte Valorizado del Ejecutor	Valor Estimado (US$)
Sueldo de la investigadora responsable. Se calcula a los efectos del proyecto, 10 h semanales durante 36 meses:	30.000,00
Equipamiento específico para el proyecto	20.000,00

Instituciones Asociadas

Institución	Facultad de Agronomía
Tipo	Participante
Aporte Financiero del Asociado (US$)	11.500,00

Aporte Valorizado del Asociado	Valor Estimado (US$)
Sueldo del Dr. Omar Borsani (equivalente a 10 h semanales, Gr 4 durante 36 meses) y sueldo del investigador Esteban Cassaretto (equivalente a 20 h semanales, Gr 2)	45.000,00

Aporte Valorizado del Asociado	Valor Estimado (US$)
Equipamiento específico para el proyecto	20.000,00

Institución	Facultad de Ciencias
Tipo	Co-Ejecutora
Aporte Financiero del Asociado (US$)	8.500,00

Aporte Valorizado del Asociado	Valor Estimado (US$)

Equipo Técnico

Investigador	Institución	Especialidad
Sabina Vidal Macchi	Facultad de Ciencias	Fisiología y bioquímica de la planta
Juan Pablo Gallino	Facultad de Ciencias	Genética vegetal y fitomejoramiento
Omar Borsani	Facultad de Agronomía	Fisiología y bioquímica de la planta
Esteban Casaretto	Facultad de Agronomía	Fisiología y bioquímica de la planta

Verificables Generales del Proyecto (Productos 1, 2, 4 Y 5)

Producto:	A partir de los resultados del proyecto se contará con una lista de genotipos de soja caracterizados en relación a sus susceptibilidad a ser trasformados por Agrobacterium y/o bombardeo de partículas. Además se conocerá la capacidad de los mismos para regenerar plantas a partir de embriones somáticos y de callos inducidos de nodos cotiledonares.
Tipo:	1-Producción Científico-Técnica
Categoría:	1.6-Producción Técnica
Indicador:	1.6.2-Informes
Año:	2014
Semestre:	2

Componentes Relacionados:

C1: Desarrollo de un protocolo eficiente para transformación de soja

Producto:	El proyecto formará RRHH calificados que serán capaces de clonar genes de soja en vectores de expresión e incorporar dichos genes mediante métodos de transgénesis.
Tipo:	4-Desarrollo del Capital Intelectual
Categoría:	4.3-Capacitación en servicio
Indicador:	4.3.1-Capacitación en servicio
Año:	2016
Semestre:	2

Componentes Relacionados:

C2: Obtención de un genotipo de soja expresando la recombinasa Cre para la generación de cisgénicos

C3: Obtención de un sistema de vectores para la generación de cisgénicos en soja.

C4: Obtención de genotipos de soja con expresión modulada de genes de tolerancia a sequía.

C1: Desarrollo de un protocolo eficiente para transformación de soja

Rubros y Códigos Agriscaris

	SJ	Total
A50	**60,00**	**60,00**
F30	**40,00**	**40,00**
Total	**100,00**	**100,00**

Contribución a la Resolución del Problema Identificado

La mejora de la tolerancia al estrés ambiental en plantas es compleja además de no ser prioritaria para las grandes empresas biotecnológicas del sector semillero de soja. Esto significa que la obtención de variedades tolerantes a estrés ambiental deba enmarcarse con recursos a nivel país. El INIA ha reactivado el programa de mejora de soja lo que demuestra el interés en la generación de variedades adaptadas a las condiciones locales. Es clave que el INIA cuente con las capacidades de generar transgénicas que le permitiría incorporar características a los cultivares que de otra forma sería imposible. La generación de cisgénicos de soja, es decir, plantas que incorporen por transgénesis genes de soja y que carezcan de secuencias y genes adicionales es altamente innovador y debería explotarse a la brevedad. Por otro lado, la validación de genes mediante la evaluación de plantas transgénicas que hayan incorporado genes candidatos, es un objetivo de gran utilidad para los programas de mejora de INIA. Los laboratorios responsables de la propuesta integran una red dirigida a la mejora de soja y cuentan con genotipos parcialmente caracterizados en cuanto a su desempeño en condiciones de estrés, así como de una colección de genes inducidos en condiciones de estrés biótico y abiótico. El potencial beneficio del uso de estos genes para el desarrollo de marcadores funcionales en el mejoramiento o con fines de transgénesis es enorme.

Descripción del Problema Identificado
La soja es el principal cultivo en nuestro país ocupando casi 1 millón de hectáreas. En Uruguay pasó de ser un cultivo completamente marginal a ocupar una de las principales áreas agrícolas del país. En los últimos 5 años el cultivo de soja ha multiplicado casi por diez su contribución a la balanza comercial uruguaya llegando en el año 2011 al aporte de más de 800 millones de dólares. Este crecimiento en área y volumen ha provocado el crecimiento de otros cultivos lo que determina que el área agrícola se haya incrementado a valores alcanzados en los años 50, años récord de actividad agrícola, llegando actualmente a casi 1,2 millones de hectáreas cultivadas (Fuente DIEA). La necesidad de expansión de la frontera agrícola y el cambio climático global imponen nuevas restricciones a la producción de los cultivos, que incluyen tanto estrés de origen biótico (diversas enfermedades y plagas) como abiótico (sequía, temperaturas extremas, etc). Consecuentemente, entre los factores ambientales que más inciden en el desarrollo y rendimiento del cultivo de la soja está la sequía. El estrés hídrico reduce los rendimientos y restringe las zonas cultivables con soja a aquellas donde existe competencia con otras especies alimenticias comercialmente importantes. Dado el impacto económico que la ocurrencia de sequía tiene sobre la producción de soja en la región, cualquier esfuerzo para mejorar los rendimientos bajo condiciones de estrés hídrico redundará en beneficio de los productores, del medio ambiente y de la sociedad en general. La disponibilidad de cultivares con rasgos de tolerancia a estrés ambiental es casi nulo, principalmente debido a las dificultades de mejorar para caracteres complejos. Por otro lado la base genética con que se cuenta para los programas de mejoramiento de soja es estrecha, lo que dificulta la búsqueda de variabilidad cuando se desea incorporar nuevas características. En este contexto, resulta indispensable el empleo de estrategias que permitan ampliar esa variabilidad o posibiliten la mejora por incorporación dirigida de genes de interés y poder aprovechar este conocimiento para generar cultivares elites con un alto potencial de rendimiento bajo condiciones de estrés. Este proyecto pretende generar las capacidades y metodologías a nivel nacional necesarias para obtener plantas transgénicas de soja, que podrán incorporarse a los programas de mejoramiento de esta especie.

Antecedentes y Justificación

La soja (Glycine max), al igual que cualquier otro cultivo de verano, está frecuentemente sometida a los regímenes de déficit hídrico que se generan durante esa estación. Tanto la caída en la intención de siembra del cultivo, como la disminución de los rendimientos esperados son consideradas las dos principales fuentes de pérdidas en la agricultura.

La historia del mejoramiento genético de soja para la tolerancia al estrés hídrico es relativamente reciente. Hasta 1980, no había genotipos de soja identificados con tolerancia agronómica a la sequía. La primera fuente identificada de tolerancia a estrés hídrico se produjo con la descripción de líneas de marchitamiento lento "slow wilting genotypes" (Carter et al 2003). A su vez, varios estudios describen a la soja cultivada como una especie de escasa variabilidad genética, lo cual explica las pocas referencias al carácter de tolerancia a sequía comparado con otros cultivos sembrados en las mismas regiones geográficas.

En general, los programas de mejoramiento para la obtención de variedades de soja con mayor grado de tolerancia a la sequía han dado escasos resultados a la fecha. Se ha identificado un cierto número de QTLs (quantitative trait loci) asociados a esta característica en soja (Pathan et al 2007; Abdel-Haleem et al 2011). Sin embargo, estas regiones genómicas explican menos del 10 % de la variación fenotípica observada entre los distintos genotipos (Manavalan et al 2009). Esto significa que ninguno de los parámetros utilizados para analizar los diferentes mecanismos de resistencia a sequía, es suficiente por sí mismo para evaluar fenotípicamente el grado de resistencia a este estrés en esta especie. En este contexto, resulta indispensable el empleo de estrategias que integren distintas aproximaciones experimentales para generar cultivares elites con un alto potencial de rendimiento bajo condiciones de estrés como la sequía.

La identificación de genes asociados a la tolerancia al estrés es clave para el mejoramiento genético convencional y molecular de una especie en cuestión, ya sea para el desarrollo de marcadores moleculares que asistan la evaluación del grado de tolerancia de un genotipo en particular, como para el mejoramiento de un cultivo por transgénesis (Papdi et al 2009). El desarrollo de herramientas moleculares derivadas de la genómica y post genómica incluyendo los análisis transcripcionales y metabólicos, constituyen herramientas valiosas para la identificación de genes candidatos. En soja existe importante información a nivel genómico en el ámbito internacional. Se cuenta con un mapa consenso con más de mil marcadores SSR mapeados en 20 grupos de ligamiento saturado con marcadores RFLP, RAPD y AFLP, al que se han incorporado secuencias de cDNA (Matthews et al., 2001). El genoma está secuenciado y disponible en la base de datos Phytozome y se cuenta actualmente con más de 400.000 ESTs en bases de datos de GenBank (Shoemaker et al., 2002) y alrededor de 4700 SNPs y 839 InDels (Choi et al., 2007). Existe una base de datos de SNPs en soja con información de secuencias de cebadores, posición de SNP así como secuencias de alelos presentes en seis genotipos y el mapa integrado completo con SSR, RFLP y SNPs (http://bfgl.anri.barc.usda.gov/cgibin/soybean/Linkage.pl). Asimismo se han desarrollado microarreglos de ADN comerciales (Affymetrix® GeneChip) y recientemente se ha reportado el desarrollo de TILLING en soja (Cooper et al., 2008). Sin embargo, la mayoría de los genes candidatos identificados por las herramientas antes descriptas no han sido aún validados experimentalmente.

En el marco del proyecto "Aproximación genómica integrada en el MERCOSUR para la prospección de genes útiles para el mejoramiento de la soja frente a estrés biótico y abiótico", Biotecsur, financiado por la Unión Europea, nuestro grupo se centró en la identificación de genes candidatos para aumentar la tolerancia al estrés hídrico en soja, mediante la comparación del transcriptoma entre dos genotipos de soja contrastantes en cuanto a su desempeño en condiciones de estrés hídrico. En ese trabajo se utilizaron los cultivares N7001 y TJ2049. El primero es un cultivar de alto rendimiento, definido como tolerante a la sequía, por su fenotipo de "slow wilting" en condiciones de estrés hídrico (Hufstetler et al 2007), mientras que el segundo se define claramente como susceptible a estas condiciones de estrés.

Como resultado de estos estudios, se identificaron varios genes de respuesta a sequía que mostraron un claro patrón de expresión diferencial entre los genotipos tolerantes y susceptibles. Varios de estos genes fueron seleccionados para evaluar su función en la tolerancia al estrés hídrico utilizando como modelo vegetal a Arabidopsis thaliana. Este trabajo generó resultados muy prometedores, sobre todo con respecto a dos de los genes seleccionados. Uno de ellos codifica un factor de iniciación de la traducción (GmEIF), mientras que el otro codifica una proteína que pertenece a la familia de las "sieve element occlussion" (GmSEO). El patrón de expresión de estos genes se muestra en la figura 1A. Estos genes fueron evaluados como posibles candidatos para mejorar la tolerancia a sequía en plantas mediante experimentos de expresión controlada en Arabidopsis y la posterior caracterización fenotípica de las plantas transgénicas resultantes. La expresión controlada se logró utilizando el vector binario pER8 (Zuo et al 2000), que utiliza estradiol como inductor del promotor quimérico que regula la expresión del transgen. Los resultados se muestran en la figura 1B e indican claramente que en presencia de estradiol (en condiciones de inducción del transgen), las plantas se vuelven significativamente más tolerantes al estrés osmótico y al estrés salino que las plantas wild type. Si bien estos genes fueron validados experimentalmente en una planta modelo y no en soja aún, estos resultados nos alentaron a llevar a cabo un análisis de patentabilidad e iniciar los procedimientos para redactar una solicitud de patente internacional de estos genes. Para esto, nuestro grupo cuenta con el apoyo del INIA, que fue integrante del proyecto inicial financiado por la Unión Europea.

El proyecto persigue desarrollar las capacidades en el país para la implementación de herramientas biotecnológicas que asistan y complementen el programa de mejoramiento genético de soja, inicialmente haciendo énfasis en estrategias para aumentar la tolerancia a la sequía en este cultivo. Por un lado, esto permitirá llevar a cabo la validación de genes mediante la evaluación de plantas transgénicas de soja, lo cual será de gran utilidad para los programas de mejora de INIA. Por otro lado, la transgénesis es una herramienta muy poderosa para introducir genes en una planta, especialmente cuando el gen de interés no está presente en el germoplasma de ese cultivo. Los cultivos transgénicos comercializados actualmente son ejemplos de esa situación, conteniendo genes de otras especies que le aportan al cultivo características nuevas. Sin embargo, el alcance de esta tecnología no se limita a ese tipo de situaciones, si no que permite por ejemplo introducir secuencias del genoma de la misma especie de forma muy precisa, así como introducir genes propios, pero alterando o modulando su expresión en la planta mediante la modificación de sus regiones reguladoras. Si bien en estos casos se busca incorporar genes propios de la especie, las plantas resultantes son transgénicas y normalmente incluyen regiones de ADN adicionales que no le aportan ninguna ventaja a la línea resultante. El costo de desregulación de un nuevo transgénico de este tipo para su uso a nivel comercial es igualmente alto que el que se espera para un transgénico que ha incorporado genes foráneos a su genoma. Sin embargo, actualmente existe un debate en torno a lo que atañe a la regulación de los cisgénicos, es decir plantas que incorporan por transgénesis un gen de la misma especie y que carecen de otras secuencias adicionales, comúnmente incorporadas durante el procedimiento de transgénesis (Rommens et al 2004; Waltz 2011; Schouten et al 2006a y Schouten et al 2006b). Es esperable que el avance de las tecnologías moleculares y el desarrollo de nuevos productos agrícolas basados en la tecnología de ADN recombinante y la modificación dirigida del genoma propio de la especie, impulsen a las entidades encargadas de regular los aspectos de bioseguridad, a revisar las normas con respecto a la liberación de nuevas variedades. En ese contexto, es clave que a nivel nacional, y en particular en instituciones como el INIA, se cuente con las capacidades para desarrollar este tipo de tecnologías que resultan altamente innovadoras y tienen un enorme potencial para los programas de mejoramiento genético en general.

Estrategia del Proyecto

Este proyecto tiene como objetivos desarrollar las capacidades en el país para transformar soja y generar cisgénicos de esta especie que incorporen genes involucrados en la tolerancia a sequía, previamente identificados y validados en especies modelo por nuestro grupo. Por un lado, se pondrá a punto la transformación genética de soja utilizando Agrobacterium tumefaciens y biolística. Por otro lado, se construirá un vector de transformación que permita la posterior eliminación de secuencias no deseadas de las plantas transformadas, así como la expresión constitutiva o inducible de genes de interés regulados por promotores de soja. De esta forma, genes candidatos podrán ser introducidos en soja mediante ingeniería genética, resultando en la generación de cisgénicos.

Para eliminar del genoma las secuencias de ADN no deseadas, se utilizará el sistema cre/lox, proveniente del bacteriófago P1 (Sauer and Henderson 1988; Sternberg and Hamilton 1981) Este sistema se basa en dos componentes: (a) la recombinasa Cre, que cataliza la recombinación entre dos sitios LoxP, y (b) los sitios LoxP, que consisten en secuencias de 34 pares de bases (pb): 8 pb centrales y 13 pb de repetidos inversos que flanquean secuencia de 8 pb central, donde ocurre la recombinación. La orientación y la ubicación de los sitios LoxP determinan si la recombinación induce una deleción, una inversión u otro tipo de rearreglo genómico (Nagy 2000). Si estos sitios .están orientados en la misma dirección en un segmento del cromosoma (arreglo en cis), la Cre recombinasa generará la deleción del ADN que está entre los dos sitios LoxP (Figura 2).

La estrategia gereral que se plantea utilizar en este trabajo se esquematiza en la Figura 3. Por un lado, se generará una línea de soja transgénica que frente a un estímulo específico, active la expresión del gen de la recombinasa Cre. Esta línea podrá ser utilizada posteriormente en cruzamientos con otras líneas de soja transgénicas, que expresen los genes candidatos de interés. Estas últimas serán generadas a partir de un vector de transformación que contenga el cassette de selección flanqueado por dos sitios LoxP, de forma tal que en presencia de Cre, esta secuencia sea escindida del genoma. La progenie resultante de estos cruzamientos podrá ser analizada para la segregación de la construcción de expresión de Cre. Se seleccionarán individuos que carezcan de esta última y que hayan escindido correctamente el cassette de selección. Esta etapa del trabajo no está contemplada como parte de las actividades específicas para realizarse dentro de los plazos estipulados del proyecto, pero forma parte de las perspectivas futuras del mismo.

En base a estos objetivos, por un lado se ensayarán diferentes protocolos de transformación de soja utilizando un vector que permite evaluar simultáneamente la eficiencia de transformación y la eficiencia de escisión de secuencias específicas a través del sistema cre/lox. Este vector (pX6-GFP) fue desarrollado por el grupo del Dr. Nam-Hai Chua para generar plantas transgénicas de Arabidopsis libres de secuencias no deseadas (Zuo et al 2001).

Paralelamente, se generarán dos vectores de transformación conteniendo diferentes promotores de soja para la expresión constitutiva o inducible de genes candidatos en esta especie. Estos vectores tendrán además la secuencia 3´no traducida del gen VSP (vegetative storage protein) de soja (Mason et al 1993) y dos sitios LoxP flanqueando el cassette de selección (resistencia a glufosinato de amonio).

Finalmente, utilizando estos vectores se generarán plantas transgénicas de soja con expresión constitutiva del gen GmSEO y expresión inducible por sequía del gen GmEIF. Como se detalla en la sección de antecedentes, estos genes fueron previamente identificados por nuestro grupo por presentar un perfil de expresión génica frente a condiciones de estrés hídrico, claramente diferencial entre los genotipos de soja tolerantes y susceptibles a la sequía. La sobreexpresión de GmSEO y de GmEIF en Arabidopsis confirió tolerancia al estrés hídrico, osmótico y salino en las plantas transgénicas.

Se espera con este trabajo, obtener líneas de soja más tolerantes a la sequía, las cuales posteriormente podrán ser cruzadas con las líneas que expresan la recombinasa Cre y así obtener líneas cisgénicas que hayan eliminado las secuencias no deseadas de ADN presentes en las construcciones utilizadas para su transformación. Estas líneas podrán ingresar al programa de mejoramiento genético de soja para cruzamiento con otras variedades.

Materiales y Métodos

Puesta a punto de un protocolo para transformación de soja

La soja es una especie que tiene generalmente una baja eficiencia de transformación. Los problemas que surgen de la aplicación de las distintas metodologías de transgénesis de esta especie generalmente están relacionados a la especificidad del tejido y a la variedad de soja utilizada. Los protocolos actuales de transformación desarrollados para la soja utilizan principalmente dos tipos de sistemas de transferencia del ADN. Uno de ellos se basa en el bombardeo embriones somáticos (Santarem y Finer, 1999; Araga et al, 2000; Droste et al 2002) y requiere generalmente de un período prolongado de cultivo de tejidos para generar tejidos competentes en una etapa previa a la transformación. El otro tipo de métodos está basado en la transformación mediada por Agrobacterium tumefaciens (Zhang et al, 1999; Liu et al 2004; Paz et al 2005), que si bien tiene menor eficiencia que la biolística, presenta algunas ventajas sobre la biolística, principalmente relacionadas con el patrón de integración de los transgenes al genoma, resultando generalmente en un menor número de copias del transgen y una menor complejidad en la disposición de las mismas.

En este trabajo se ensayarán ambas metodologías. Para la transformación mediada por Agrobacterium tumefaciens, se emplearán cepas de esta bacteria con distintos grados de virulencia. Específicamente, se utilizarán las cepas KYRT1 (Torisky et al 1997) y EHA101 (Hood et al. 1986), las cuales han mostrado tener buena capacidad de infección frente a distintos genotipos de soja en otros estudios (Dang y Wei 2007). Existen numerosos protocolos en la bibliografía, para la transformación de soja mediada por Agrobacterium, que varían principalmente en el tipo de tejido utilizado como explante y el mecanismo de generación de heridas para optimizar la infección con esta bacteria (Clemente et al. 2000; Olhoft et al. 2003; Liu et al. 2004; Paz et al. 2004; Zeng et al. 2004). En este trabajo, se utilizarán inicialmente explantes de nudos cotiledonares derivados de semillas maduras de soja, de acuerdo a Paz et al (2006). Se evaluará la eficiencia de transformación de distintos genotipos de soja, incluyendo a la variedad Thorne (McBlain et al 1993), que ha mostrado ser susceptible a la infección con Agrobacterium.

Paralelamente se evaluará un método de transformación de soja basado en biolística, desarrollado y optimizado por el grupo de Wayne A. Parrot (Bailey et al,1993; Samoylov et al, 1998; Walker y Parrot, 2001; Schmidt et al 2005). Este método se basa en la generación y transformación de embriones somáticos, obtenidos a partir de embriones zigóticos inmaduros (en estadio globular). En estos experimentos se utilizará la variedad Jack (Nickell et al 1990) por ser altamente eficiente en la inducción de embriones somáticos. Asimismo, se ensayarán otros genotipos provenientes del germoplasma de INIA.

Para ambas metodologías, nuestro grupo cuenta con el asesoramiento de la Dra. Maria H. Zanettini de UFRGS (Universidade Federal do Rio Grande do Sul) y del Dr. Atilio Castagnaro de EEAOC (Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Argentina). Nuestro grupo mantiene una estrecha colaboración con ambos investigadores, quienes formaron parte del consorcio creado en torno al proyecto Biotecsur, financiado por la Unión Europea.

Vectores para evaluación del protocolo de transformación:

Se utilizarán dos vectores para evaluar la eficiencia de transformación. Uno de ellos (pHS 35S-GUS-int), es un vector binario que contiene una unidad transcripcional del gen reportero GUS, bajo el control del promotor constitutivo 35S CamV. Este vector fue construido en nuestro laboratorio y ha sido muy útil para evaluar distintos protocolos de transformación en diferentes especies vegetales. Por otro lado se utilizará el vector pX6-GFP, desarrollado por el grupo del Dr. Nam-Hai Chua como herramienta para evaluar el sistema cre/lox en Arabidopsis para generar plantas transgénicas libres de secuencias no deseadas (Zuo et al 2001). El vector pX6-GFP contiene tres unidades transcripcionales flanqueadas por dos sitios LoxP ubicados en orientación directa (Figura 4). La activación de la expresión del gen cre se realiza mediante un sistema expresión condicional que se basa en dos unidades transcripcionales separadas por un cassette de resistencia a kanamicina para la selección de los eventos transgénicos. Por un lado, un promotor fuerte y constitutivo (G10-90) (Ishige et al 1999) regula la expresión de un gen, denominado XVE. Este gen codifica una proteína quimérica que actúa como activador de la transcripción del gen cre, que está bajo la regulación de un promotor sintético que consiste en ocho copias del operador LexA bacteriano ubicadas corriente arriba de la versión mínima del 46 pb del promotor 35S de CaMV (OlexA-46). La proteína quimérica XVE contiene el dominio de unión al ADN del represor bacteriano LexA, el dominio acídico de transactivación de la proteína VP16, y la región C-terminal reguladora del receptor de estrógenos humano (Zuo et al 2000). La expresión del gen de XVE es constitutiva, pero esta proteína quimérica se activa únicamente en presencia de la hormona estradiol. De esta forma, si la región codificante de la proteína Cre se clona a continuación del promotor OlexA-46, el agregado de estradiol activará XVE que a su vez inducirá la expresión de Cre.

La utilización de pX6-GFP permite visualizar de una forma sencilla la escisión del ADN flanqueado por los sitios LoxP. Esto es posible debido a que el vector contiene a su vez, la región codificante de la proteína verde fluorescente (GFP) sin promotor, ubicada inmediatamente a continuación uno de los sitios LoxP. Cuando se induce el gen cre y la recombinasa elimina el ADN ubicado entre los sitios LoxP, el gen GFP se puede expresar, por quedar ubicado inmediatamente a continuación del promotor constitutivo G10-90 (Figura 4). De esa forma, se podrán visualizar, tanto los eventos transgénicos, como los que escinden correctamente la secuencia de ADN no deseada.

Construcción de vectores para la producción de cisgénicos de soja

En primer lugar, se generará una construcción génica para obtener plantas de soja que expresen condicionalmente el gen cre. Para ello, se utilizará el vector binario pMDC7 (Curtis y Grossniklaus 2003) en donde se clonará el gen cre, conteniendo un intrón vegetal, bajo el control de un promotor inducible por estradiol. La presencia del intrón tiene la finalidad de impedir la acumulación de Cre en Agrobacterium o Escherichia coli, dado que el promotor inducible por estradiol ha mostrado tener cierto nivel basal de expresión en sistemas bacterianos. Este vector confiere resistencia a la higromicina en plantas (Figura 5).

Paralelamente se construirán dos vectores binarios para la expresión constitutiva o inducible por sequía de genes candidatos en soja (Figura 6). Se introducirán sitios loxP flanqueando el cassette de selección (resistencia a glufosinato), de forma tal de facilitar la posterior eliminación de esta región de ADN por cruzamiento con genotipos que expresen Cre.

Para la introducción de las diferentes secuencias en los vectores de transformación, se utilizará el método de clonado SLiCE (Seamless Ligation Cloning Extract), basado en el ensamblado de fragmentos de ADN mediante una reacción de recombinación (Zhang et al 2012). El método consiste en la utilización de un extracto bacteriano que facilita la recombinación homóloga entre fragmentos de PCR extremos homólogos. Esta técnica ha sido utilizado en nuestro grupo para generar exitosamente fragmentos recombinantes de gran tamaño y complejidad.

Uno de los vectores incluirá el promotor de un gen de ubiquitina de soja para dirigir la expresión constitutiva de genes candidatos. Este promotor será obtenido a partir de ADN genómico de la línea N7001 de soja, en base a reportes bibliográficos y a datos experimentales de nuestro grupo. Estudios recientes han permitido definir regiones promotoras de genes constitutivos de alta expresión de soja (Hernández-García et al 2010). Nuestro grupo evaluará la expresión de los distintos genes de ubiquitina reportados en la bibliografía bajo condiciones de estrés, principalmente sequía. Se extraerá ARN total a partir de plantas de soja en diferentes etapas del ciclo de vida, tanto en condiciones óptimas de crecimiento como en estrés hídrico. Se analizará la expresión de estos genes por qPCR, utilizando cebadores específicos diseñados para reconocer la región 3´ no traducida de los transcriptos. Se seleccionará un gen cuya expresión no se vea afectada durante el estrés para clonar la región 5´ promotora y utilizarla en el vector de transformación. Posteriormente, esta región será evaluada en ensayos de expresión transitoria por agroinfiltración de hojas de tabaco, de acuerdo a Sheludko et al (2006), con una construcción que contenga

este promotor regulando la expresión del gen reportero GFP.

Se generará además un segundo vector de transformación que incluya un promotor inducible por estrés hídrico de soja. Como se mencionó anteriormente, nuestro grupo cuenta con una colección de genes que se inducen en respuesta a sequía en soja. Se analizará las regiones promotoras de dos de los genes de respuesta a sequía identificados por nuestro grupo. Uno de estos es el gen GmSEO proveniente del genotipo N7001, el cual mostró niveles de expresión elevados y sostenidos en el tiempo, desde etapas tempranas de imposición del estrés hídrico, (Figura 1A del anexo 1 de la sección Antecedentes). El otro promotor que se evaluará pertenece a un gen que codifica una proteína de la familia de las dehidrinas (GmDHN), que también mostró un perfil de expresión rápido y elevado frente a sequía.

Para evaluar las regiones promotoras de estos genes, se clonará una secuencia de dos kb corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción de GmSEO y de GmDHN, en un vector binario sin promotor, que contenga la secuencia codificante de GFP. La funcionalidad de estos promotores se evaluará en sistemas heterólogos (Arabidopsis y tabaco), para lo cual, por un lado, las construcciones pSEO-GFP y pDHN-GFP, serán introducidas en forma estable en Arabidopsis thaliana mediante infiltración de flores con Agrobacterium (Clough y Bent, 1998). Las semillas transgénicas resultantes, de la generación T2 serán visualizadas al microscopio de fluorescencia en condiciones normales y de estrés hídrico, para la detección de la señal de GFP. Los niveles de expresión de GFP serán analizados por Western blot utilizando anticuerpos comerciales contra esta proteína. Por otro lado, estas construcciones serán evaluadas en ensayos de expresión transitoria en protoplastos de tabaco. Las técnicas de transformación de Arabidopsis así como de expresión transitoria de genes en tabaco por agroinfiltración de hojas o por electroporación de protoplastos, son técnicas rutinariamente utilizadas por nuestro grupo de investigación.

De acuerdo a los datos de expresión obtenidos en estos estudios, se seleccionará una de las dos secuencias para construir el vector de transformación de soja para dirigir la expresión de genes candidatos en condiciones de sequía.

Obtención de genotipos de soja con expresión inducible de Cre

La construcción génica conteniendo el gen Cre bajo el control del promotor inducible por estradiol, será utilizada para transformar soja. Las semillas de la generación T1, resistentes a higromicina, serán multiplicadas en condiciones controladas de invernadero en la Facultad de Agronomía, siguiendo estrictamente las normas de bioseguridad que regulan el crecimiento de plantas transgénicas en Uruguay. Las plantas de la generación T2 serán caracterizadas en cuanto a cantidad de insertos de la construcción en el genoma. Se buscarán líneas con un solo inserto, a partir de las cuales se obtendrán semillas de la generación T3. Esas plantas serán utilizadas posteriormente para cruzamiento con los genotipos transgénicos generados, para eliminar las secuencias no deseadas de las construcciones para expresión de genes candidatos.

Generación de genotipos de soja con expresión modulada de genes de tolerancia a sequía

Utilizando los vectores para expresión constitutiva e inducible por sequía, se generarán construcciones génicas para la transformación de soja con los genes de tolerancia a sequía GmSEO y GmEIF. Datos experimentales previos de nuestro grupo provenientes de la expresión heteróloga de estos genes en Arabidopsis, indicaron que la expresión fuerte y constitutiva de GmEIF en esta planta puede ocasionar ciertas alteraciones en la tasa de crecimiento de las plantas transgénicas. Por lo tanto, en el caso de este gen, se utilizará el vector para expresión inducible por sequía. Se clonará la región codificante del gen GmEIF bajo el control del promotor inducible seleccionado. Por su parte, el gen GmSEO será clonado en el vector para expresión constitutiva, ya que no se observaron alteraciones provenientes de la sobreexpresión de este gen en Arabidopsis.

Ambas construcciones, conteniendo los sitios loxP flanqueando el cassette de selección a glufosinato, serán introducidas en los genotipos de soja que hayan dado mayor eficiencia de transformación en nuestro laboratorio. Las semillas de las líneas resultantes serán multiplicadas, y las provenientes de la generación T2 podrán ser caracterizadas en cuanto al número de insertos en el genoma, y a los niveles de expresión de los transgenes. Esto se realizará mediante ensayos de Southern blot y Northern blot o qPCR, de acuerdo a protocolos utilizados de rutina en nuestro grupo.

En etapas posteriores a este proyecto, los genotipos resultantes serán evaluados fenotípicamente frente a sequía, en condiciones controladas de crecimiento. Los genotipos que contengan una sola copia del transgén podrán ser cruzados con el genotipo que expresa Cre para activar la eliminación de las secuencias no deseadas de ADN presentes en las construcciones de transformación.

Caracterización fenotípica de las respuestas a sequia en soja

La evaluación de la tolerancia sequia en los distintos genotipos de soja se realizara en condiciones de crecimiento de luz y temperatura controladas. Las plantas se crecerán en cilindros de 45 cm de longitud y 12 cm de diámetro sin restricciones hídricas hasta el estado de V3. A partir de ese momento se suprimirá el riego, se monitoreara el contenido de agua del suelo hasta llegar a 50 % de capacidad de campo y las plantas crecerán en este contenido de agua por 15 días. Los distintos genotipos se evaluaran en condiciones control (100 % capacidad de campo) y de sequia (50 % capacidad de campo). Para la evaluación de las respuestas de los distintos se utilizaran parámetros fisiológicos y bioquímicos tales como: contenido relativo de agua, conductancia estomática, actividad fotosintética (IRGA), fluorescencia del fotosistema II, acumulación de prolina, contenido de clorofila y discriminación isotópica del carbono 13C/12C. Se analizara además el desarrollo área foliar, arquitectura y desarrollo radicular y materia seca total.

Gestión del Conocimiento

Los resultados obtenidos del proyecto se presentarán en jornadas técnicas, se comunicarán a la Mesa Tecnológica de Oleaginosas. Previamente a su publicación en la serie técnica del FPTA y en revistas internacionales, se evaluará la factibilidad de protección de las invenciones mediante patentamiento.

Beneficiarios Potenciales

Grupo Institucional			
Tipo:	1.6. Universidades y comunidad científica	**Comentarios:**	El desarrollo de las capacidades locales que permitan el empleo de estrategias innovadoras para la obtención de materiales genéticos con características de interés es un aporte real a la comunidad científica. La disponibilidad de una metodología probada de trasferencia de genes permitirá que otros grupos de investigación nacionales puedan incorporar valor a la soja, mediante la generación de nuevos genotipos.

Grupo Productivo

Tipo:	2.1. Productores empresariales con mayor demanda	**Comentarios:**	El cultivo de soja es un caso particular ya que casi el 100 % de las variedades que se utilizan se han generado por tecnología de transgénesis. En este sentido tal vez los primero beneficiarios sean productores mas ávidos a adoptar nuevas tecnologías, sin embargo el objetivo del proyecto puede tener un impacto considerable en los productores en general ya que tendrán una tecnología mas accesible y ajustable a las necesidades locales.

Impactos Esperados

Impactos Económicos

Variable Afectada:	Productividad	**Comentarios:**	La posibilidad de tener una tecnología que permita incluir genes de tolerancia a estrés ambiental tendrá un impacto directo en la productividad de la soja.	**Impacto:**	2
Variable Afectada:	Calidad de Producto	**Comentarios:**	En este proyecto no se plantea la incorporación de genes que mejoren la calidad del producto pero tener tecnología de trasgénesis disponible abre un abanico de posibilidades en relación a la utilizar de genes que si pueden modificar calidad, ejemplo aceite, niveles de proteína en grano, etc.	**Impacto:**	1
Variable Afectada:	Diferenciación de Producto	**Comentarios:**	La generación de genotipos con características particulares único en el mercado determina que dicho producto se diferencie significativamente del resto.	**Impacto:**	2
Variable Afectada:	Nuevos Mercados	**Comentarios:**	La reglamentación de los cis-génicos no es clara aún por lo que se piensa no permitirá la llegada a nuevos mercados.	**Impacto:**	-2
Variable Afectada:	Costos de Producción	**Comentarios:**	No se visualiza un impacto relevante en los costos de producción	**Impacto:**	0
Variable Afectada:	Ingresos	**Comentarios:**	En el supuesto que se podrán generar genotipos con mayor estabilidad en el rendimiento se prevé un impacto en los ingresos por producción	**Impacto:**	1

Impactos Sociales

Variable Afectada:	Capacitación Técnica	**Comentarios:**	Las técnicas que se pondrán a punto en el proyecto tendrán un impacto en la generación de personal calificado para la utilización de la tecnología de transgénesis en el país.	**Impacto:**	2
Variable Afectada:	Condiciones Laborales	**Comentarios:**	No se visualiza un impacto en esta variable	**Impacto:**	0
Variable Afectada:	Condiciones de Empleo	**Comentarios:**	No se visualiza un impacto en esta variable	**Impacto:**	0

Impactos Ambientales

Variable Afectada:	Eficiencia Tecnológica	**Comentarios:**	La independencia tecnológica de INIA en lo que se refiere a la posibilidad de generar sus propias plantas de soja transgénicas con características de interés es de alto impacto.	**Impacto:**	2
Variable Afectada:	Conservación Ambiental	**Comentarios:**	Se puede considerar un impacto positivo en la eficiencia del uso del agua por parte del cultivo lo que lleva a una mejor uso del recurso hídrico en la agricultura.	**Impacto:**	1
Variable Afectada:	Recuperación Ambiental	**Comentarios:**	No se visualiza impacto en esta variable	**Impacto:**	0
Variable Afectada:	Cambio Climático	**Comentarios:**	El efecto del cambio climático sobre la productividad de la soja podría ser en parte mitigado con la generación de genotipos tolerantes, en este caso a sequía, pero también se puede pensar en mayor tolerancia a otros estreses ambientales.	**Impacto:**	1

Matriz de Marco Lógico

	Narrativa	Indicadores	Medio de Verificación	Supuestos
Fin	El desarrollo exitoso del proyecto brindará herramientas tecnológicas que permitirán incorporar a los programas de mejoramiento genotipos con características de interés agrícola, la productividad del cultivo de soja se verá incrementada con el uso de los productos del proyecto. Las metodologías que se desarrollaran en el proyecto permitirán a INIA tener la capacidad propia de incorporar genes de interés en soja ya sea con el objetivo de incrementar la variabilidad genética en los programas de mejoramiento o solo con el fin de probar su funcionalidad.	El proyecto tendrá varios productos que determinarán el logro en las distintas etapas, por una parte se tendrán disponibles herramientas que permitirán modificar la expresión de un gen de interés y eliminar cualquier secuencia de ADN no deseada (vectores de expresión y modificación). Por otro lado se suministrará un protocolo eficiente de trasformación de soja el que estará disponible para los investigadores de INIA. Por último se generará material vegetal (callos, embriones somáticos o plántulas) que lleven incorporado en su genoma genes que previamente se han identificado como posibles candidatos a brindar tolerancia a sequía en soja.	En relación a la generación de los vectores y los protocolos de transformación es amplia la bibliografía que trata sobre estos temas. En cuanto a la generación de un cis-génico en soja no existe aún información disponibles libremente, esto sumado a que los genes que se utilizarán fueron obtenidos por el grupo proponente y no se han probado anteriormente en soja, los medios de verificación serán los informes del proyecto.	El proyecto se basa en los supuestos que la menos uno de los genotipos que se trabajará podrá ser trasformado con los métodos que se proponen. Por otro lado es necesario que las plantas transgéncias obtenidas sen fértiles con el fin de propagar el evento cis-génico y demostrar que es posible utilizarlo como material en programas de mejoramiento.
Propósito	La generación de plantas de soja cisgénicas permitirá a los mejoradores contar con genotipos con características desables, difícilmente obtenibles mediante mejoramiento genético convencional, para incorporarse en los programas de mejoramiento.	La multiplicación del genotipo de soja portando genes de tolerancia a sequía, una vez terminado el proyecto, permitirá su evaluación en condiciones controladas, lo que permitirá tener datos de performance de este genotipo en respuesta a déficit hídrico. Esta información es clave para la decisión de incluir o no este genotipo (con tolerancia a sequía incrementada).	Los datos de evaluación de los distintos genotipos serán la fuente de información que se tendrá para verificar el logro del propósito.	INIA y su mejoradores adoptarán este tipo de estrategias en la obtención de genotipos de soja con mayor productiviad y estabilidad de rendimiento.
Componente	C1: Desarrollo de un protocolo eficiente para transformación de soja	Datos de eficiencia de transformación de los distintos protocolos basados en infección con Agrobacterium o en biolística de embriones somáticos.	Visualización y cuantificación de la expresión heteróloga de GFP o GUS en material vegetal transformado.	Por lo menos uno de los genotipos de soja seleccionados es apto para la transformación por alguno de los métodos evaluados.
Componente	C2: Obtención de un genotipo de soja expresando la recombinasa Cre para la generación de cisgénicos mediante cruzamiento.	Obtención de una construcción génica para expresión inducible de Cre e incorporación de esta secuencia en el genoma de al menos un genotipo de soja seleccionado.	Uno o más genotipos de soja caracterizados, con alta expresión de Cre frente al agregado del inductor.	Al menos una línea transgénica generada tendrá alta expresión de cre a partir de una sola copia del transgen.
Componente	C3: Obtención de un sistema de vectores para la generación de cisgénicos en soja.	Datos de expresión de genes endógenos de soja (ubiquitina y dehidrina). Validación de la funcionalidad de los promotores a partir de experimentos de expresión transitoria.	Vectores de transformación con secuencias promotoras definidas.	Las regiones promotoras seleccionadas para regular la expresión de genes candidatos permitirán los niveles de expresión adecuados para la mejora de la característica de interés.
Componente	C4: Obtención de genotipos de soja con expresión modulada de genes de tolerancia a sequía.	Haber obtenido material vegetal resistente al medio selectivo	Datos preliminares de expresión de los genes GmEIF y GmSEO provenientes de plántulas transgénicas de la generación T2.	Se podrán multiplicar por semilla los eventos transgénicos generados.
Componente	C5: Caracterización fenotípica de la respuesta a sequía de genotipos con expresión modulada de genes de tolerancia	Datos de parámetros bioquímicos, fisiológicos y de desarrollo de los genotipos transgénicos en condiciones óptimas de crecimiento y de déficit hídrico.	Valores de contenido relativo de agua, conductancia estomática, eficiencia fotosintética, acumulación de osmolitos, área foliar, peso de la planta y estructura de sistema radicular.	Haber obtenido sufienciente número de semillas para llevar a cabo los ensayos fenotípicos

Detalle de las Actividades

Componente: C3: Obtención de un sistema de vectores para la generación de cisgénicos en soja.

Actividad: 1.Caracterización de regiones promotoras de genes de soja constitutivos y de respuesta a sequía.

Descripción

Se analizarán regiones de 2 kb corriente arriba de los genes GmSEO y GmDHN, así como de genes de ubiquitina de soja en cuanto a su capacidad de regular la expresión de GFP en ensayos de expresión transitoria en tabaco y mediante la generación de líneas de Arabidopsis transgénicas. Se analizará la expresión de genes de ubiquitina de soja previamente descritos en la literatura, en distintas condiciones de crecimiento y estrés mediante qPCR. Se obtendrán los promotores a partir de la amplificación de ADN genómico de la variedad N7001 y su clonado en un vector binario conteniendo la región codificante del gen de GFP. Las plantas expresando GFP bajo la regulación de los promotores GmSEO y GmDHN serán sometidas a condiciones de estrés hídrico y analizadas en lupa para la detección de la señal de GFP. Se realizarán ensayos de Western blot para determinar los niveles de expresión de GFP. A partir de los resultados obtenidos, se seleccionará un promotor constitutivo y un promotor inducible para la incorporar en los vectores de transformación de soja.

Duración

Fecha Inicio: 01/09/2013	**Fecha Fin:** 01/07/2014

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Participante	Sabina Vidal Macchi
Responsable	Juan Pablo Gallino
Participante	Esteban Casaretto

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Agronomía

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Secuencia de promotores constitutivos e inducibles por sequía para la expresión modulada de genes candidatos en soja. Este producto es factible de protección por patentamiento
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.14-Generación de conocimiento
Indicador:	3.14.8-Otros
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C4: Obtención de genotipos de soja con expresión modulada de genes de tolerancia a sequía.

Actividad: 1.Obtención de construcciones génicas para la expresión constitutiva de GmSEO y para la expresión inducible por sequía de Gm

Descripción

Se clonará la región codificante del gen GmSEO en el vector conteniendo el promotor constitutivo, y la región codificante del gen GmEIF en el vector conteniendo el promotor inducible por sequía.

Duración

Fecha Inicio: 01/10/2014	**Fecha Fin:** 01/12/2014

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Responsable	Juan Pablo Gallino

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Construcciones génicas para la expresión constitutiva de GmSEO e inducible por sequía de GmEIF en soja. Ambos genes confieren tolerancia a la sequía en sistemas heterólogos. Estas mismas construcciones podrán introducirse en otras especies vegetales para evaluar esta estrategia para incrementar la tolerancia a sequía en otros cultivos
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.13-Sistemas de Información
Indicador:	3.13.8-Software
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C1: Desarrollo de un protocolo eficiente para transformación de soja

Actividad: 1.Obtención de genotipos de soja caracterizados en base al grado de susceptibilidad a distintas cepas de Agrobacterium tumefac

Descripción

Diez genotipos del germoplasma de soja de INIA, y la variedad Thorne serán analizados en cuanto a la susceptibilidad de los mismos a las distintas cepas de Agrobacterium, conteniendo el vector pX6-GFP o el vector p35S-GUS-int. Los tejdos resistentes al medio selectivo obtenidos a partir de explantes de nudos cotiledonares, serán tratados con estradiol y visualizados en una lupa para la detección de la señal de GFP, o analizados por su actividad GUS mediante detección histoquímica del producto de la reacción.

Duración

Fecha Inicio: 01/09/2013	**Fecha Fin:** 01/03/2014

Equipo Técnico Participante	
Rol	**Nombre**
Participante	Sabina Vidal Macchi
Responsable	Juan Pablo Gallino

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Genotipos provenientes de germoplasma de INIA y otros de referencia, caracterizados en cuanto a la factibilidad de utilizar métodos de transformación basados en infección por Agrobacterium
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.14-Generación de conocimiento
Indicador:	3.1.1-Parámetros genéticos estimados
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C2: Obtención de un genotipo de soja expresando la recombinasa Cre para la generación de cisgénicos

Actividad: 1.Obtención de una construcción génica conteniendo el gen Cre-int bajo la regulación de un promotor inducible por estradiol

Descripción

Se obtendrá mediante aplificación por PCR la secuencia del gen Cre-int a partir del vector pX6-GFP y se introducirá en el vector binario pMDC7 mediante recombinación con sistema GATEWAY, a partir de un vector pDONR intermedio. La construcción final será verificada mediante secuenciación.

Duración

Fecha Inicio: 01/09/2013	**Fecha Fin:** 01/12/2013

Equipo Técnico Participante	
Rol	**Nombre**
Responsable	Sabina Vidal Macchi
Participante	Juan Pablo Gallino

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Obtención de una construcción génica que permita la generación de plantas transgénicas, de distintas especies, con expresión inducible de la recombinasa Cre. El cruzamiento de estas plantas con otras líneas transgénicas que contengan secuencias LoxP, permitirá la posterior eliminación de secuencias no deseadas en la progenie resultante de la cruza
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.13-Sistemas de Información
Indicador:	3.13.9-Algoritmos
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C3: Obtención de un sistema de vectores para la generación de cisgénicos en soja.

Actividad: 2.Generación de vectores de transformación de soja conteniendo secuencias promotoras caracterizadas y secuencias loxP para l

Descripción

Se generarán dos vectores de transformación conteniendo las secuencias loxP flanqueando el cassette de resistencia a glufosinato y un promotor constitutivo o inducible por sequía.

Duración

Fecha Inicio: 01/05/2014	**Fecha Fin:** 01/10/2014

Equipo Técnico Participante	
Rol	**Nombre**
Responsable	Sabina Vidal Macchi
Participante	Juan Pablo Gallino

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)	
Descripción:	Vectores de transformación para la producción de cisgénicos de soja con expresión constitutiva o inducible por sequía de genes candidatos. Este producto es factible de protección
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.13-Sistemas de Información
Indicador:	3.13.9-Algoritmos
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C2: Obtención de un genotipo de soja expresando la recombinasa Cre para la generación de cisgénicos

Actividad: 2.Obtención de semillas de genotipos de soja transformados resistentes al medio selectivo (higromicina)

Descripción

Se utilizará el protocolo de transformación de soja optimizado para introducir la construcción conteniendo el gen Cre bajo la regulación de un promotor inducible por estradiol. Se obtendrán semillas de la generación T1 que serán analizadas en cuanto a su capacidad de germinar en presencia de higromicina.

Duración

Fecha Inicio: 01/11/2014 **Fecha Fin:** 01/11/2015

Equipo Técnico Participante	
Rol	**Nombre**
Participante	Sabina Vidal Macchi
Participante	Juan Pablo Gallino
Responsable	Omar Borsani
Participante	Esteban Casaretto

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Agronomía

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)	
Descripción:	Genotipos de germoplasma de soja de INIA y de referencia conteniendo la construcción de expresión de Cre, parcialmente caracterizados
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.13-Sistemas de Información
Indicador:	3.13.9-Algoritmos
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C4: Obtención de genotipos de soja con expresión modulada de genes de tolerancia a sequía.

Actividad: 2.Obtención de semillas de la generación T1 provenientes de genotipos de soja transformados con las construcciones para la exp

Descripción

Se utilizará el protocolo de transformación de soja optimizado para introducir las construcciones conteniendo los genes candidatos. Se obtendrán semillas de la generación T1 que serán analizadas en cuanto a su capacidad de germinar en presencia de glufosinato.

Duración

Fecha Inicio: 01/12/2014 **Fecha Fin:** 01/10/2015

Equipo Técnico Participante	
Rol	**Nombre**
Responsable	Juan Pablo Gallino
Participante	Omar Borsani
Participante	Esteban Casaretto

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Agronomía

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)	
Descripción:	Genotipos de soja en etapas iniciales de caracterización, conteniendo los genes candidatos bajo la regulación de promotores constitutivos o inducibles de soja.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.13-Sistemas de Información
Indicador:	3.13.9-Algoritmos
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C1: Desarrollo de un protocolo eficiente para transformación de soja

Actividad: 2.Optimización de condiciones de cultivo para la selección, crecimiento y diferenciación de callos

Descripción

Los genotipos susceptibles a la infección con Agrobacterium serán evaluados en cuanto a su capacidad de generar callos, y diferenciación de los mismos. Se evaluarán parámetros de cultivo para iniciación del tallo y enraizamiento.

Duración

Fecha Inicio: 01/10/2013	**Fecha Fin:** 01/04/2014

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Participante	Sabina Vidal Macchi
Responsable	Juan Pablo Gallino

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)	
Descripción:	Condiciones de cultivo optimizadas para transformación y regeneración de eventos transgénicos para genotipos de germoplasma de INIA y genotipos de referencia
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.9-Metodología Científica
Indicador:	3.9.1-Protocolos desarrollados
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C1: Desarrollo de un protocolo eficiente para transformación de soja

Actividad: 3.Caracterización de genotipos de soja en base a su capacidad de desarrollar embriones somáticos

Descripción

Los diez genotipos provenientes del germoplasma de soja de INIA y la variedad Jack serán evaluados en cuanto a su capacidad de generar embriones somáticos. Las plantas se crecerán en cámara de cultivo y se obtendrán los embriones zigóticos inmaduros a partir de las vainas. La eficiencia en la obtención de embriones somáticos se evaluará tanto para este tipo de material de partida, como para explantes provenientes de cotiledones inmaduros. Se optimizarán las condiciones de cultivo para la inducción y multiplicación de embriones somáticos, así como para su diferenciación, maduración y posterior capacidad de germinación.

Duración

Fecha Inicio: 01/09/2013	**Fecha Fin:** 01/05/2014

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Participante	Juan Pablo Gallino
Participante	Omar Borsani
Responsable	Esteban Casaretto

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Agronomía

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)	
Descripción:	Genotipos de germoplasma de INIA y de referencia caracterizados en cuanto a la capacidad de generar embriones somáticos para transformación por biolística
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.14-Generación de conocimiento
Indicador:	3.14.2-Caracterización estimada/verificada
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C2: Obtención de un genotipo de soja expresando la recombinasa Cre para la generación de cisgénicos

Actividad: 3.Obtención de semillas de genotipos de soja de la generación T2, conteniendo una única copia del transgén

Descripción

Se obtendrán semillas de los eventos resistentes a higromicina, los cuales serán analizados para determinar el número de copias del transgén por Southern blot, y los niveles de expresión de Cre frente a tratamientos con estradiol, mediante Northern blot. Las líneas con inserción de una sola copia de la construcción serán seleccionadas para la posterior generación de plantas homocigotas.

Duración

Fecha Inicio: 01/11/2015	**Fecha Fin:** 01/08/2016

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Responsable	Juan Pablo Gallino
Participante	Omar Borsani
Participante	Esteban Casaretto

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Agronomía

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Genotipos con expresión inducible de Cre por inserción de un transgén en copia única, útiles para posterior cruzamiento con eventos trangénicos para la generación de cisgénicos en soja
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.13-Sistemas de Información
Indicador:	3.13.9-Algoritmos
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C4: Obtención de genotipos de soja con expresión modulada de genes de tolerancia a sequía.

Actividad: 3.Semillas de la generación T2 caracterizadas, conteniendo un único inserto y exhibiendo niveles adecuados de expresión de los

Descripción

Se obtendrán semillas de los eventos resistentes a glufosinato, los cuales serán analizados para determinar el número de copias del transgén por Southern blot, y los niveles de expresión de GmSEO o GmEIF , en condiciones óptimas de crecimiento, y en sequía mediante Northern blot. Las líneas con inserción de una sola copia de la construcción serán seleccionadas para la posterior generación de plantas homocigotas y su caracterización fenotípica.

Duración

Fecha Inicio: 01/10/2015	**Fecha Fin:** 31/08/2016

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Participante	Sabina Vidal Macchi
Participante	Juan Pablo Gallino
Responsable	Omar Borsani
Participante	Esteban Casaretto

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Agronomía

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Genotipos de soja transgénicos, conteniendo una copia de las construcciones y exhibiendo altos niveles de expresión de los genes de tolerancia a sequía. Estos eventos podrán ser caracterizados fenotípicamente y cruzados con las líneas que expresan Cre para la posterior producción de líneas cisgénicas
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.13-Sistemas de Información
Indicador:	3.13.9-Algoritmos
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C1: Desarrollo de un protocolo eficiente para transformación de soja

Actividad: 4.Optimización de condiciones de transformación por biolística y obtención de datos de eficiencia comparativos con los métodos b

Descripción

Se utilizarán las construcciones pX6-GFP y p35S-GUS para bombardear embriones somáticos obtenidos a partir de la variedad Jack y de genotipos seleccionados. Los eventos transformados se visualizarán con lupa mediante detección de la actividad GUS, o de la señal de fluorescencia luego del agregado de estradiol al medio de cultivo. Se comparará la eficiencia de transformación y de regeneración de los eventos entre los protocolos utilizados en base a la infección por Agrobacterium y en base al bombardeo de partículas.

Duración

Fecha Inicio: 01/03/2014	**Fecha Fin:** 01/11/2014

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Participante	Sabina Vidal Macchi
Participante	Juan Pablo Gallino
Responsable	Omar Borsani
Participante	Esteban Casaretto

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Agronomía
Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Protocolo de transformación de soja optimizado y seleccionado en base a datos de eficiencia de transformación y de regeneración de eventos transgénicos. Lista de genotipos de germoplasma de soja con sus condiciones óptimas de transformación por los distintos métodos.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.9-Metodología Científica
Indicador:	3.9.1-Protocolos desarrollados
Fecha de Planificación:	14/05/2013

Detalle de las Actividades

Componente: C5: Caracterización fenotípica de la respuesta a sequía de genotipos con expresión modulada de gene

Actividad: Obtención de plantas transgénicas con expresión modulada de genes de tolerancia a sequía, caracterizadas en su respuesta a se

Descripción

Se evaluará la respuesta a sequía de doce plantas provenientes de cada evento transgénico junto con los genotipos de referencia: N7001, TJ2049, y los genotipos que brindan la base genética de las transgénicas. Se realizarán ensayos de crecimiento en condiciones controladas y confinadas en cámaras de crecimiento.

Duración

Fecha Inicio: 01/08/2016	**Fecha Fin:** 31/03/2017

Equipo Técnico Participante

Rol	Nombre
Participante	Sabina Vidal Macchi
Participante	Juan Pablo Gallino
Responsable	Omar Borsani
Participante	Esteban Casaretto

Instituciones Participantes

Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Agronomía
Universidad de la República (UdelaR)/ Facultad de Ciencias

Resultados Esperados (Producto / Proceso Tecnológico)

Descripción:	Genotipos de soja transgénicos validados en relación a su comportamiento frente a sequía. Estos genotipos podrán ser cruzados posteriormente con líneas que expresan Cre para generar cisgénicos.
Tipo:	3-Desarrollo de tecnologías, productos y procesos
Categoría:	3.2-Creaciones Fitogenéticas
Indicador:	3.2.5-Otros
Fecha de Planificación:	17/05/2013

FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (FPTA)

Presupuesto

Fuente de Financiamiento: Facultad de Agronomía

Rubro	Concepto	Cantidad	Unidad	Costo/unidad	Monto Año 1	Monto Año 2	Monto Año 3	Monto Año 4
Insumos y suministros	medios de cultivo y reactivos generales (hormonas, agar, antibióticos, etc)	1,00	Lts	5.500,00	0,00	1.000,00	3.000,00	1.500,00
Infraestructura	acondicionamiento para cámara de cultivo en tierra de la Facultad de Agronomía	1,00		6.000,00	3.000,00	3.000,00	0,00	0,00

Fuente de Financiamiento: Facultad de Ciencias

Rubro	Concepto	Cantidad	Unidad	Costo/unidad	Monto Año 1	Monto Año 2	Monto Año 3	Monto Año 4
Insumos y suministros	medios de cultivos y reactivos generales (agarosa, reactivos químicos generales, etc)	1,00		2.500,00	2.500,00	0,00	0,00	0,00
Insumos y suministros	reactivos para biología molecular (enzimas, síntesis de primers, marcadores, etc)	1,00		5.000,00	2.500,00	2.500,00	0,00	0,00
Insumos y suministros	material plástico (placas de petri, tubos en general)	1,00		1.000,00	0,00	1.000,00	0,00	0,00

Fuente de Financiamiento: FPTA

Rubro	Concepto	Cantidad	Unidad	Costo/unidad	Monto Año 1	Monto Año 2	Monto Año 3	Monto Año 4
Insumos y suministros	material de plástico (placas de petri, tubos tipo eppendorf, tubos para PCR, puntas de pipetas, etc)	1,00	unidad	8.000,00	3.000,00	3.000,00	2.000,00	0,00
Equipos de Laboratorio	lupa equipada para detección de fluorescencia y registro de imágenes (tipo Olympus MVX10)	1,00	unidad	9.900,00	9.900,00	0,00	0,00	0,00
Pasantes y Becarios	Cargo universitario equivalente a Grado 2, 35 h semanales	24,00	meses	1.950,00	23.400,00	23.400,00	0,00	0,00
Insumos y suministros	reactivos de biología molecular (enzimas: polimerasas, retrotranscriptasas, de restricción, recombinasas, etc); nucleótidos, reactivos para qPCR, síntesis de primers, kits de extracción y purificación de ácidos nucleicos	1,00	unidad	14.000,00	5.000,00	5.000,00	4.000,00	0,00
Insumos y suministros	microcarriers de oro para biolística	2,00	unidad	750,00	750,00	750,00	0,00	0,00
Reparaciones y Mante	accesorios para reponer en equipo de gene gun (roscas de bronce, rejillas, membranas, alquiler de tanque de helio, cambio de caño para gas, reparación del sistema de disparo	1,00		3.000,00	3.000,00	0,00	0,00	0,00
Reparaciones y Mante	agregado y reparación de lámparas al cuarto de cultivo in vitro de plantas de la Facultad de Ciencias	1,00	Lts	800,00	800,00	0,00	0,00	0,00
Insumos y suministros	medios de cultivo y reactivos generales	3,00		4.000,00	4.000,00	4.000,00	4.000,00	0,00
Serie técnica FPTA	publicación en serie técnica fpta	1,00	unidad	3.000,00	0,00	0,00	3.000,00	0,00
Otros Egresos	imprevistos (diferencias en costos de materiales, etc)	1,00	unidad	4.950,00	1.650,00	1.650,00	1.650,00	0,00
Otros Egresos	gastos de administración	1,00	unidad	9.900,00	4.000,00	3.000,00	2.900,00	0,00

Referencias Bibliográficas

Autor principal	Cita
Abdel-Haleem, H	Abdel-Haleem H, Lee G-J y Boerma RH (2011) Identification of QTL for increased fibrous roots in soybean. Theor. Appl. Genet.122-925
Aragao, FJL	Aragao F.J.L, . Sarokin L, Vianna G.R., Rech E.L (2000) Selection of transgenic meristematic cells utilizing a herbicidal molecule results in the recovery of fertile transgenic soybean [Glycine max (L.) Merrill] plants at a high frequency, Theror. Appl. Genet. 101, 1–6
Bailey, MA	Bailey, MA, HR, Boerma, Parrott WA (1993) Genotype-specific optimization of plant regeneration from somatic embryos of soybean Plant Science 93, 117-120
Carter, TE	Carter TE, Burton JW, Bowman DT, Cui Z, Zhou X, Villagarcia MR, Fountain MO, Niewoehner AS (2003) Registration of 'N7001' Soybean Crop Sci 43, 1126-1127
Choi, IY	Choi IY, Hyten DL y Matukumalli LK (2007) Identification of SNPs in RNA-seq data of two cultivars of Glycine max (soybean) differing in drought resistance. Genetics and Molecular Biology 176, 685-96
Clemente, T	Clemente T, LaVallee BJ, Howe AR, Ward DC, Rozman RJ, Hunter PE, Broyles DL, Kasten DS, HincheeMA (2000) Progeny analysis of glyphosate selected transgenic soybeans derived from Agrobacterium-mediated transformation. Crop Sci 40, 797–803
Clough, SJ	Clough S.J, Bent A.F. (1998) Floral dip: a simplified method for Agrobacterium mediated transformation of Arabidopsis thaliana, Plant Journal 16, 735–743
Cooper, JL	Cooper JL, Till BJ, Laport RG, Darlow MC, Kleffner JM, Jamai A, El-Mellouki T, Liu S, Ritchie R, Nielsen N, Bilyeu KD, Meksem K, Comai L y Henikoff S (2008) TILLING to detect induced mutations in soybean. BMC Plant Biology, 8-9
Curtis, MD	Curtis MD y Grossniklaus U (2003) A Gateway Cloning Vector Set for High-Throughput Functional Analysis of Genes in Planta. Plant Physiol. 133, 462–469
Dang, W	Dang, W y Wei, Z (2007) An optimized Agrobacterium-mediated transformation for soybean for expression of binary insect resistance genes. Plant Science, 173, 381-389
Droste, A	Droste A, Pasquali G, Bodanese-Zanettini M.H. (2002) Transgenic fertile plants of soybean [Glycine max (L). Merrill] obtained from bombarded embryogenic tissue, Euphytica 127, 367–376
Hernandez-Garcia C M	Hernandez-Garcia C M, Bouchard R A, Rushton P J, Jones M L, Chen X, Timko M P, Finer J J (2010) High level transgenic expression of soybean (Glycine max) GmERF and Gmubi gene promoters isolated by a novel promoter analysis pipeline. BMC Plant Biology 10, 237
Hood, EE	Hood EE, Helmer GL, Fraley RT, ChiltonMD (1986) The hypervirulence of Agrobacterium tumefaciens A281 is encoded in a region of pTiBo542 outside of T-DNA. J Bacteriol 168:1291–1301
Hufstetler, EV	Hufstetler EV, Boerma HR, Carter TE y Earl HG (2007) Genotypic Variation for Three Physiological Traits Affecting Drought Tolerance in Soybean. Crop Sci. 47, 25-35
Ishige, F	Ishige, F., Takaichi, M., Foster, R., Chua, N.-H. and Oeda, K. (1999) A G-box motif (GCCACGTGCC) tetramer confers high-level constitutive expression in dicot and monocot plants. Plant J. 18, 443–448
Liu, HK	Liu H.K., Yang C, Wei Z.M (2004) Efficient Agrobacterium tumefaciens mediated transformation of soybeans using an embryonic tip regeneration system, Planta 219, 1042–1049
Manavalan, LP	Manavalan LP, Guttikonda SK, Plan Tran L-S y Nguyen T (2009) Physiological and Molecular approaches to improve drought resistance in soybean. Plant Cell Physiol.50, 1260-1276
Mason, HS	Mason HS, DeWald D, Mullet JE (1993) Identification of a methyl jasmonate-responsive domain in the soybean vspB promoter. Plant Cell 5, 241-251
Matthews, BF	Matthews BF, Devine TE, Weisemann JM, Beard HS, Lewers KS, MacDonald MH, Park YB, Maiti R, Lin JJ, Kuo J, Pedroni MJ, Cregan PB y Saunders JA (2001) Incorporation of sequenced cDNA and Genomic Markers into the Soybean Genetic Map Crop Sci., 41, 516-521
McBlain, BA	McBlain, B.A.; Fioritto, R.J.; St Martin, S.K.; Calip-Dubois, A.J.; Schmitthenner, A.F.; Cooper, R.L.; Martin, R.J. (1993) Registration of 'Thorne' soybean. Crop Science. 33, 1406
Nagy, A	Nagy A. 2000. Cre recombinase: the universal reagent for genome tailoring. Genesis 26, 99-109
Nickell, CD	Nickell C D, Noel G R, Thomas D J, Waller R. (1990) Registration of 'Jack' soybean. Crop Science 30, 1365
Olhoft, PM	Olhoft PM, Flagel LE, Donovan CM, Somers DA (2003) Efficient soybean transformation using hygromycin B selection in the cotyledonary-node method. Planta 216, 723–735
Papdi, C	Papdi, C., Prathiba Joseph, M., Perez Salamó, I., Vidal, S., Sábados, L. (2009) Genetic technologies for the identification of plant genes controlling environmental stress responses. Functional Plant Biology 36, 696-720
Pathan, MS	Pathan MS, Lee JD, Shannon JG y Nguyen HT (2007) In: Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops. Eds Jenks MA, Hasegawa PM, Jain SM. PP 265-302 Springer New York.
Paz, M M	Paz M.M, Martinez J.C, Kalvig A.B, Fonger, T.M, Wang K. (2005) Improved cotyledonary node method using an alternative explant derived from mature seed for efficient Agrobacterium-mediated soybean transformation. Plant Cell Rep. 25, 206–213
Paz, M M	Paz MM, Martinez JC, Kalvig AB, Fonger TM, Wang K (2006) Improved cotyledonary node method using an alternative explant derived from mature seed for efficient Agrobacterium-mediated soybean transformation. Plant Cell Rep. 25: 206–213
Paz, M M	Paz MM, Shou H, Guo Z, Zhang Z, Banerjee AK, Wang K (2004) Assessment of conditions affecting Agrobacterium-mediated soybean transformation using the cotyledonary node explant. Euphytica 136,167–179

Rommens, C M	Rommens, C.M., Humara, J.M., Ye, J., Yan, H., Richael, C., Zhang, L., Perry, R., Swords, K. (2004). "Crop Improvement through Modification of the Plant's Own Genome." Plant Physiol. 135, 421-431.
Samoylov, V M	Samoylov, V.M., D.M. Tucker, and W.A. Parrott. (1998). Soybean [Glycine max (L.) Merrill] embryogenic cultures: the role of sucrose and total nitrogen content on proliferation. In Vitro Cell Dev.Biol. Plant 34, 8-13.
Santarem, E R	Santarem E.R, Finer J.J. (1999) Transformation of soybean [Glycine max (L.) Merrill] using proliferative embryogenic tissue maintained on semi-solid medium, In Vitro Cell Dev. Biol. Plant 35, 451–455
Sauer, B	Sauer B, Henderson N. 1988. Site-specific DNA recombination in mammalian cells by the Cre recombinase of bacteriophage P1. Proc Natl Acad Sci U S A 85, 5166-70
Schmidt, M A	Schmidt, M.A., D.M. Tucker, E.B. Cahoon, and W.A. Parrott. (2005). Towards normalization of soybean somatic embryo maturation Plant Cell Rep. 24, 383-391
Schouten, H J	Schouten H J, Krens1 F A; Jacobsen E (2006a) Do cisgenic plants warrant less stringent oversight? Nature Biotechn 24, 753
Schouten, H J	Schouten H J, Krens1 F A; Jacobsen E (2006b) Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants. EMBO reports 7, 750 - 753
Sheludko, Y V	Sheludko YV, Sindarovska YR, Gerasymenko IM, Bannikova MA et al (2006) Comparison of several Nicotiana species as host for high-scale Agrobacterium -mediated transient expression. Biotechnol Bioeng 96, 608–614
Shoemake, R	Shoemake R, Keim P,. Vodkin N, Retze E, Clifton SW, Waterston R, Smoller D, Coryell V, Khanna A, Erpelding J, Gai X, Brendel V, Raph-SchmidtC, ShoopEG, Vielweber CJ, Schmatz M, Pape D, Bowers Y, Theising B, Martin J, Dante M, Wylie T, Granger C (2002) A compilation of soybean ESTs: generation and analysis Genome 45, 329-338
Sternberg, N	Sternberg N, Hamilton D. 1981. Bacteriophage P1 site-specific recombination. I. Recombination between loxP sites. J Mol Biol 150, 467-86
Torisky, R S	Torisky, R.S, Kovacs, L. Avdiushko, S., Newman, J.D., Hunt, A.G., Collins, G.B. (1997) Development of a binary vector system for plant transformation based on the supervirulent Agrobacterium tumefaciens strain Chry5, Plant Cell Rep. 17, 102–108
Walker, D R	Walker DR, Parrott WA (2001) Effect of polyethylene glycol and sugar alcohols on soybean somatic embryo germination and conversion. Plant Cell Tissue Organ Cult 64, 55–62
Waltz, E	Waltz E (2011). Cisgenic crop exemption. Nature Biotechnology 29, 677
Zeng, P	Zeng P,VadnaisDA, Zhang Z, Polacco JC (2004) Refined glufosinate selection in Agrobacterium-mediated transformation of soybean [Glycine max (L.) Merrill]. Plant Cell Rep 22, 478–482
Zhang, Y	Zhang Y, Werling U, Edelmann W (2012) SLiCE: a novel bacterial cell extract-based DNA cloning method. Nucleic Acids Research 40, e55
Zhang, Z Y	Zhang Z.Y, Xiang A.Q. Staswick Q (1999) The use of glufosinate as a selective agent in Agrobacterium-mediated transformation of soybean, Plant Cell Tiss. Org. Cult. 56, 37–46
Zuo, J	Zuo J, Niu QW, Chua NH (2000) Technical advance: an estrogen receptor based transactivator XVE mediates highly inducible gene expression intransgenic plants. Plant J. 24, 265–273
Zuo, J	Zuo J, Niu, Q W, Moller S G, Chua N-H (2001). Chemical-regulated, site specific DNA excision in transgenic plants. Nature Biotechnol 19, 153-161

ANEXO 2.

TÉRMINOS DE REFERENCIA DEL LIDER DEL PROYECTO

El Líder del Proyecto deberá cumplir con los siguientes términos, mientras dure el plazo de este Convenio.

a) **Responsabilizarse** por la ejecución técnica de la investigación de acuerdo a lo descripto en el Documento Proyecto presentado al Llamado.

b) **Controlar** el cumplimiento en tiempo y forma de la propuesta técnica del Proyecto. Para ello utilizará como guía el documento del proyecto presentado a INIA y el Cronograma de Actividades que este Convenio incorpora.

c) **Realizar** informes de avance semestrales, un informe Final y un resumen ejecutivo de los resultados del Proyecto, de acuerdo a las cláusulas de este Convenio. Estos informes deben ser enviados o entregados a la Unidad Coordinadora de Ejecución de INIA.

e) **Aportar** toda la información que le sea requerida por INIA para un correcto seguimiento y posterior evaluación del Proyecto.