

## AVANCES Y DESAFÍOS DE LA EDICIÓN GÉNICA PARA EL MEJORAMIENTO DE PLANTAS

Gabriela Alejandra Massa<sup>1,2,3</sup>, Matías Nicolás González<sup>1,2</sup> y Sergio Enrique Feingold<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Agrobiotecnología, INTA - EEA Balcarce, Balcarce, República Argentina.

<sup>2</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, República Argentina.

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, República Argentina.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia. e-mail: [feingold.sergio@inta.gob.ar](mailto:feingold.sergio@inta.gob.ar)

RESUMEN	36
SUMMARY	36
Advances and challenges of gene editing for plant breeding	36
INTRODUCCIÓN	37
Aplicaciones y potencialidades del sistema CRISPR/Cas en el mejoramiento de cultivos	38
Marco regulatorio	39
Desafíos y perspectivas de la EG	40
AGRADECIMIENTOS	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

### RESUMEN

La edición génica (EG) constituye una de las tecnologías más revolucionarias de la biotecnología moderna, con especial importancia en el mejoramiento de la calidad y el rendimiento de los cultivos. Desde su primera aplicación en plantas en el año 2012, el sistema CRISPR/Cas se ha establecido como la técnica de EG más utilizada en mejoramiento, dado que permite obtener resultados de forma predecible, rápida y económica. Estas características, acopladas a las recientes políticas regulatorias adoptadas por los países de nuestra región, plantean un escenario de oportunidad para el uso de la EG en la mejoramiento de plantas para la agricultura moderna. En este artículo, hacemos una revisión de los avances de CRISPR/Cas en el mejoramiento de especies vegetales y sus potencialidades. Adicionalmente, discutimos el marco regulatorio planteado para los organismos vegetales editados, haciendo foco en los países de nuestra región. Finalmente, se presentan los desafíos y perspectivas que posee el uso de esta tecnología

**Palabras clave:** Edición génica, CRISPR, mejoramiento de cultivos.

### SUMMARY

#### ADVANCES AND CHALLENGES OF GENE EDITING FOR PLANT BREEDING

Gene editing (GE) represents a revolutionary technology in modern biotechnology, with special importance in crop improvement for yield, quality and sustainability. Since its early application in plants in 2012, CRISPR has been established as the preferred GE technique for plant breeding, since it produces results in a more predictable, faster and cheaper manner. These characteristics, coupled with recently adopted regulatory frameworks by several countries, sets an ideal scenario for CRISPR application for plant breeding in modern agriculture. Here, we review advances of CRISPR in crop breeding and their potential. In addition, we present the regulatory framework for crops obtained by gene editing technologies, focusing on South American countries. Finally, we analyze challenges and prospective on CRISPR/Cas applications in plant breeding.

**Key Words:** Gene Editing, CRISPR, crop breeding.

## INTRODUCCIÓN

De acuerdo con el último reporte de las Naciones Unidas, se proyecta que la población mundial crezca de 7,6 billones a 9,8 billones en 2050 y a 11,2 billones en 2100 (*2019 Revision of World Population Prospects*; <https://population.un.org/wpp/>). Esto nos enfrenta al desafío no sólo de generar más alimento sino que los alimentos sean de buena calidad. En este sentido, la obtención de nuevas variedades de cultivos con tolerancia a factores bióticos y abióticos y al incremento en la calidad nutricional y agroindustrial son objetivos primordiales de los programas de mejoramiento.

La biotecnología vegetal ha tenido una participación destacada en el mejoramiento de plantas durante el siglo pasado. Inicialmente a través de la generación de variabilidad genética mediante el uso de mutágenos y, a partir de los años 1990, con la utilización de las técnicas de ingeniería genética. Esta última ha permitido el desarrollo de transgénicos con caracteres novedales como resistencia a los herbicidas y a insectos que han facilitado el manejo y la producción de algunos cultivos. En este siglo, el desarrollo de la edición génica se presenta como una oportunidad de ampliar la introducción de variabilidad genética a otros caracteres para el beneficio de los consumidores y de la agroindustria.

Entre los cultivos mejorados por mutágenos físicos o químicos se encuentran los principales cereales y oleaginosas, así como, numerosas especies de hortalizas y cultivos industriales. Las características que han sido mejoradas son muy diversas, tales como resistencia a herbicidas, mayor tolerancia a estreses bióticos o abióticos, o mayor calidad nutricional o industrial. El registro y la liberación de variedades obtenidas a partir de estos métodos es similar al de las variedades generadas por el mejoramiento tradicional. Esto hace que una vez desarrollado el material, las variedades que portan mutaciones útiles pueden salir al mercado rápida y económicamente. Entre las desventajas de esta práctica se encuentra el carácter aleatorio en la generación de mutaciones que no sólo determina que deban analizarse una gran cantidad de individuos para seleccionar el mutante deseado, sino que también se requiere de varias generaciones de retro-cruzamientos para eliminar las mutaciones indeseadas introducidas por estos agentes. Asimismo, los caracteres plausibles de modificar deben ser de herencia simple, ya que la modificación simultánea de varios genes al azar es extremadamente reducida. La modificación directa del genoma obtenida por ingeniería genética, ha dado lugar al desarrollo de organismos vegetales genéticamente modificados (OVGMs) que son aquellas plantas que poseen uno o más genes introducidos por las técnicas de transformación genética, que provienen de una especie diferente. A nivel mundial, el primer OVGM fue comercializado en 1996. La Argentina ha sido pionera en la introducción y rápida adopción de cultivos transgénicos desde esa fecha. Actualmente se comercializan en el mundo varias especies vegetales modificadas genéticamente. En la Argentina se cultivan soja, maíz y algodón con resistencia a insectos y tolerancia a los herbicidas y se ha aprobado, aunque no están aún en el mercado, papas con resistencia a virosis, soja con tolerancia a sequía y cártamo para la producción de una enzima de uso en la industria láctea. En el mundo se encuentran muchos otros cultivos como berenjenas, canola, alfalfa, papaya, manzanas o flores de corte con diferentes características como la resistencia a las plagas o mayor calidad postcosecha. Los desarrollos obtenidos a través de este tipo de tecnología requieren, para su aprobación, seguir las reglamentaciones específicas para OVGMs, entre las que se encuentran la realización de ensayos del impacto ambiental y las numerosas pruebas que demuestren la inocuidad del nuevo producto, las cuales poseen un altísimo costo.

En la última década, las Nuevas Técnicas de Mejoramiento (NBT; del inglés *New Breeding Techniques*) permiten la introducción de cambios en los genomas de forma precisa y rápida. Una de las NBT con mayor potencial para el mejoramiento vegetal, es la de Edición Génica (EG), mediada por el sistema CRISPR/Cas

(del inglés *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats and CRISPR associated system*) asociado a diferentes proteínas que cortan ADN. El sistema CRISPR/Cas, es un sistema inmune adaptativo mediado por ARN de bacterias y arqueas para defenderse de la infección de fagos y otros elementos de ADN invasivos. A partir del entendimiento del sistema se adaptó para ser utilizado como herramienta biotecnológica. Brevemente, el sistema consta de una molécula de ARN que reconoce secuencias en el ADN y éste se encuentra asociado a una nucleasa del tipo Cas. Una vez que el complejo localiza la región blanco en el ADN, la nucleasa realiza cortes en la doble hebra. La maquinaria de reparación de la célula repara ese corte y frecuentemente comete errores que generan deleciones y cambios de bases e inserciones en la secuencia de ADN provocando un desplazamiento en el marco de lectura del ARNm o apariciones de codones terminales que determinan la no producción de la proteína nativa.

En el mundo y en la región la EG mediada por CRISPR/Cas ha sido adoptada rápidamente y se encuentran en desarrollo numerosos proyectos en cultivos de importancia productiva. Desde el punto de vista de sostenibilidad ambiental, en los distintos países de la región se está trabajando en la eficiencia del uso del agua y la resistencia a la sequía en soja, papa, arroz, frijol, sorgo, maíz y pasturas (INTA; EMBRAPA; INIA-Uruguay; INIA-Chile); así como en el incremento de la resistencia genética de soja, trigo, arroz y especies forrajeras frente a enfermedades fúngicas (INTA-EMBRAPA), desarrollos que impactarán positivamente en una disminución del uso de agroquímicos -una preocupación de las comunidades urbanas y periurbanas-.

En adición a estos ejemplos, nuestra región también posee grupos de investigación vegetal con trabajos en especies frutales como Vitis y Prunus en INIA-Chile, Citrus en INIA- Uruguay, papa en INTA e INIA-Chile, soja (INIA-Uruguay; EMBRAPA), caña de azúcar, alfalfa (INTA) y Setaria (EMBRAPA). Es interesante remarcar que existe una tendencia al mejoramiento por EG de caracteres en beneficio del consumidor (calidad nutricional, composición química), el procesamiento de la materia prima (calidad industrial) y la sostenibilidad de los sistemas a través de una mayor eficiencia en el uso de recursos y un menor uso de agroquímicos. En cultivos de propagación clonal como la papa, el banano, la yuca, la caña de azúcar o la vid, entre otros, la utilización de la EG puede modificar sustancialmente el esquema de los programas de mejoramiento, ya que permite realizar mejoras específicas sobre genotipos élite.

## **APLICACIONES Y POTENCIALIDADES DEL SISTEMA CRISPR/CAS EN EL MEJORAMIENTO DE CULTIVOS**

Desde el surgimiento de esta tecnología los primeros trabajos se focalizaron en realizar el apagado (o *knock out*) de genes, de los cuales previamente se conocía su función, con el objeto de mejorar los cultivos en diferentes aspectos:

1. Aumento del rendimiento. Es conocido que existen numerosos genes que afectan el rendimiento, tales como el número, peso y tamaño del grano, tamaño de la panícula entre otros. En arroz y trigo se han creado plantas con mutaciones de pérdida de función en genes relacionados a estas características y poseen el fenotipo esperado, lo que demuestra que CRISPR es una herramienta efectiva para mejorar los rasgos relacionados con el rendimiento (Li *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016, Lu *et al.*, 2017).
2. Aumento de calidad. En este sentido se han realizado trabajos en papa, en los cuales se ha modificado el tipo y contenido de almidón, editando el gen *GBSS* generado así nuevas variedades con reducido contenido de amilosa y un incremento en la relación de amilopectina/amilosa (Andersson *et al.*, 2017). Asimismo, se han obtenido papas del cultivar Desiree con una disminución

del pardeamiento enzimático debido a la pérdida de función de uno de los genes que codifica para la polifenol oxidasa, StPPO2, enzima responsable de generar los compuestos que ocasionan el aspecto oscuro en los tubérculos recién cortados o dañados (González *et al.*, 2020). En arroz y maíz también se ha editado el gen *Waxy* responsable del contenido de almidón, mejorando las aptitudes de cocción de los granos (Sun *et al.*, 2017; Waltz, 2016) y su aptitud industrial. Otros cultivos con alta calidad son la *Camelia sativa* con semillas con alto contenido de oleico (Jiang *et al.*, 2017, Morineau *et al.*, 2017) y trigo con menor cantidad de gluten (Sánchez-León *et al.*, 2018). Estas características no sólo benefician a la industria sino que poseen beneficios directos para el consumidor.

3. Tolerancia a estrés biótico. En este campo se han realizado avances respecto al mildiu tanto para el trigo como para el tomate editando los genes de susceptibilidad EDR1 y MLO (Wang *et al.*, 2014, Nekrasov *et al.*, 2017), se han obtenido cítricos tolerantes a la bacteria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* a través de la pérdida de función del gen CsLOB1 (Jia *et al.*, 2017), entre otros.
4. Tolerancia a estrés abiótico. Entre los estreses abióticos podemos mencionar la sequía, salinidad, temperaturas extremas y alta concentración de metales pesados en los suelos, entre otros.

Otra de las aplicaciones de la EG es en los estudios de genómica funcional, a través del apagado de genes individuales que, a través del análisis del fenotipo resultante, permite evidenciar la función de estos genes. En la actualidad se están generando bibliotecas de mutantes en tomate y arroz con éste propósito (Jacobs *et al.*, 2017; Meng *et al.*, 2017).

Con la EG también es posible incorporar nuevas características en un cultivo, a través de la integración de uno o más genes en una región específica del genoma (*knock in*) o a través del reemplazo alélico. A diferencia del *knock out*, en donde en su gran mayoría la reparación del corte de la enzima Cas se produce por la unión de extremos no homólogos, la reparación debe darse a través de la recombinación homóloga (RH) para propiciar la integración de nuevos genes o secuencias de recambio alélico. La RH posee una baja frecuencia en las plantas y es por esa razón que el avance (reflejado en número de publicaciones) es mucho menor. En este sentido, se están realizando diversas estrategias para aumentar la frecuencia de la RH como, por ejemplo, aumentar la concentración de molde a incorporar, estudiar las secuencias mínimas necesarias que debe contener el ADN a integrar para que ocurra la RH, expresar en forma heteróloga proteínas esenciales de la vía de reparación por RH (McVey *et al.*, 2016; Huang & Puchta, 2019), entre otras.

Además de las aplicaciones en EG, el sistema CRISPR/Cas ha sido modificado (principalmente a partir de ingeniería sobre la nucleasa) para su utilización en otro tipo de funciones. Ejemplos de estas funciones son la regulación de la expresión de genes de forma dirigida, a partir de la fusión de una enzima Cas sin actividad con dominios de activación o represión transcripcional (Zhang *et al.*, 2018); y edición a nivel de base, a partir de la fusión de enzimas Cas modificadas con dominios deaminasa (Li *et al.*, 2018); entre otros.

## MARCO REGULATORIO

Cuando la edición del genoma ocurre por inserción o delección de una o unas pocas bases de ADN, al igual que en las variedades obtenidas por mutaciones inducidas, los materiales derivados de edición génica tienen los mismos requisitos de aprobación que los obtenidos por mejoramiento convencional o mutagénesis

natural o inducida. Luego de su desarrollo, puede incorporarse al mercado rápidamente, sin la necesidad de atravesar un largo y costoso proceso de regulatorio, lo que la transforma en una tecnología accesible para instituciones públicas y pequeñas y medianas empresas. En este sentido, la Resolución 173/15 del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Argentina establece: “Para que un cambio genético sea considerado una nueva combinación de material genético, se analizará si se ha producido una inserción en el genoma en forma estable y conjunta de UNO (1) o más genes o secuencias de ADN que forman parte de una construcción genética definida” (<http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/245000-249999/246978/norma.htm>). Otros países como Brasil<sup>1</sup> y Chile<sup>2</sup> se han sumado a este concepto con sendas resoluciones. Adicionalmente, países como Uruguay, Paraguay y Colombia están avanzando en el mismo sentido.

A diferencia de Estados Unidos y de los países de nuestra región, mencionados anteriormente, la comunidad europea nuevamente se encuentra en una posición contraria, ya que existe un fallo del Tribunal Supremo de Justicia que establece que todos los productos originados mediante edición génica deben ser considerados organismos genéticamente modificados (Callaway, 2018). Sin embargo, a pesar de esto, la comunidad científica de Europa realizó una declaración abierta al Parlamento y a la Comisión Europea para que se revea esta decisión<sup>3</sup>

## DESAFÍOS Y PERSPECTIVAS DE LA EG

La EG libre de ADN utiliza ribonucleoproteínas (RNPs) que son estructuras ensambladas de enzimas nucleasas con ARN guías, que actúan transitoriamente dentro de la célula y luego son degradadas. De esta manera se regenera una planta que posee los cambios en la región deseada pero sin haber incorporado nuevo ADN. Esta aproximación depende mucho de la capacidad de regeneración de los genotipos a editar, por lo que es uno de los primeros factores que se deberían evaluar cuando se comienza un proyecto de edición génica.

Esta tecnología está íntimamente relacionada no sólo con el conocimiento de las secuencias de los genomas, sino también con el conocimiento de los genes responsables del fenotipo deseado. Este conocimiento, de la secuencia completa del organismo a editar, es también necesario para evitar la acción de las nucleasas en secuencias no blanco, denominadas *off target*, que se logra a través de una optimización en el diseño de los ARN guías. Existen otras de las formas de disminuir este efecto es la utilización de nucleasas de mayor fidelidad (por ejemplo, Cpf1), versiones de Cas9 de alta especificidad, nucleasas de otros organismos que reconocen motivos adyacentes de proto-espaciador (secuencias PAM) más largos (Kim *et al.*, 2017; Rees *et al.*, 2017) o mediante el uso de complejos RNP.

Como ya mencionamos con la EG es posible generar nueva variabilidad en aspectos específicos de los cultivos como mayor calidad nutricional e industrial y otros caracteres que asistan a la sostenibilidad de los sistemas productivos, reduciendo el uso de agroquímicos o haciendo un uso más efectivo de los recursos (agua, nutrientes). Asimismo, es posible agregar valor en los productos de cosecha con la posibilidad de generar nuevos nichos de mercado y aportar al desarrollo territorial. En este sentido es de destacar que sería deseable desarrollar proyectos que resuelvan problemas propios de la región o de cada país. Por ejemplo,

<sup>1</sup> [http://www.lex.com.br/legis\\_27603963\\_RESOLUCAO\\_NORMATIVA\\_N\\_16\\_DE\\_15\\_DE\\_JANEIRO\\_DE\\_2018.aspx](http://www.lex.com.br/legis_27603963_RESOLUCAO_NORMATIVA_N_16_DE_15_DE_JANEIRO_DE_2018.aspx)

<sup>2</sup> <http://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/aplicabilidad-de-resolucion-ndeg-15232001-en-material-de-propagacion-desarrollado-por-nuevas-tecnicas-de-fitomejoramiento>

<sup>3</sup> <https://ist.ac.at/wp-content/uploads/2019/07/Open-Statement.pdf>

mejorar características de calidad de postcosecha en frutas o productos que deban viajar hasta mercados lejanos o desarrollar u optimizar sistemas de defensa contra las plagas y enfermedades endémicas y cuarentenarias, entre otros (Zaidi *et al.*, 2016). Así también, se debería considerar a las especies nativas o aquellas que no han recibido suficiente atención en su mejoramiento (huérfanas), y su potencial impacto en los aspectos socio-económico y productivos de los territorios.

Finalmente, el avance del mejoramiento de los cultivos a través de la EG permitirá diversificar la oferta de semilla, insumo estratégico en la producción agropecuaria regional, lo que en la actualidad se encuentra concentrada en pocas especies y unas pocas empresas multinacionales de Estados Unidos, Europa y China.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo está basado en la disertación de SEF en el marco de la Jornada Científica, Sección Ciencias Farmacéuticas y Farmacológicas “CRISPR, la nueva biotecnología del Siglo XXI” -Investigación y desarrollo en Argentina- realizado en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires el 19 de Septiembre de 2019.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersson M., H. Turesson, A. Nicolia, *et al.* (2017) Efficient targeted multiallelic mutagenesis in tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) by transient CRISPR-Cas9 expression in protoplasts. *Plant Cell Rep.* 36:117-128.
- Callaway E. (2018) CRISPR plants now subject to tough GM laws in European Union. *Nature* 560:16.
- González M.N., G.A. Massa, M. Andersson, H. Turesson, N. Olsson, A.S. Fält, L. Storani, C.A.D. Oneto, P. H. & S.E. Feingold (2020) Reduced Enzymatic Browning in Potato Tubers by Specific Editing of a Polyphenol Oxidase Gene via Ribonucleoprotein Complexes Delivery of the CRISPR/Cas9 System. *Front. Plant Sci.* 10:1649. doi: 10.3389/fpls.2019.01649.
- Huang T.K. & H. Puchta (2019) CRISPR/Cas-mediated gene targeting in plants: finally, a turn for the better for homologous recombination. *Plant Cell Reports* 38:443-453 <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02379-0>.
- Jacobs T.B., N. Zhang, D. Patel, *et al.* (2017) Generation of a collection of mutant tomato lines using pooled CRISPR libraries. *Plant Physiol.* 174: 2023-2037.
- Jia H., Y. Zhang, C.V. Orbovi, *et al.* (2017) Genome editing of the disease susceptibility gene CsLOB1 in citrus confers resistance to citrus canker. *Plant Biotechnol J.* 15:817-823
- Jiang W.Z., I.M. Henry, P.G. Lynagh, L. Comai, E.B. Cahoon & D.P. Weeks (2017) Significant enhancement of fatty acid composition in seeds of the allohexaploid, *Camelina sativa*, using CRISPR/Cas9 gene editing. *Plant Biotechnol. J.* 15:648-57.
- Kim D., K. Lim, S.T. Kim, S.H. Yoon, K. Kim, *et al.* (2017) Genome-wide target specificities of CRISPR RNA-guided programmable deaminases. *Nat. Biotechnol.* 35:475-80.
- Li M., X. Li, Z. Zhou, P. Wu, M. Fang, *et al.* (2016) Reassessment of the four yield-related genes gn1a, dep1, gs3, and ipa1 in rice using a CRISPR/Cas9 system. *Front. Plant Sci.* 7:377.
- Li C., Y. Zong, Y. Wang, S. Jin, D. Zhang, *et al.* (2018) Expanded base editing in rice and wheat using a Cas9-adenosine deaminase fusion. *Genome Biol.* 19: 59.
- Lu Y., X. Ye, R. Guo, *et al.* (2017) Genome-wide targeted mutagenesis in rice using the CRISPR/Cas9 system. *Mol. Plant.* 10:1242-1245.

- Meng X., H. Yu, Y. Zhang, *et al.* (2017) Construction of a genome-wide mutant library in rice using CRISPR/Cas9. *Mol Plant.* **10**: 1238-1241.
- McVey M., V.Y. Khodaverdian, D. Meyer, P.G. Cerqueira & W.D. Heyer (2016) Eukaryotic DNA polymerases in homologous recombination. *Annu. Rev. Genet.* **50**: 393-421.
- Morineau C., Y. Bellec, F. Tellier, L. Gissot, Z. Kelemen, *et al.* (2017) Selective gene dosage by CRISPR/Cas9 genome editing in hexaploid *Camelina sativa*. *Plant Biotechnol. J.* **15**:729– 39.
- Nekrasov V., C. Wang, J. Win, C. Lanz, D. Weigel & S. Kamoun (2017) Rapid generation of a transgene-free powdery mildew resistant tomato by genome deletion. *Sci. Rep.* **7**:482.
- Rees H.A., A.C. Komor, W.H. Yeh, J. Caetano-Lopes, M. Warman, *et al.* (2017) Improving the DNA specificity and applicability of base editing through protein engineering and protein delivery. *Nat. Commun.* **8**: 15790.
- Sánchez-León S., J. Gil-Humanes, C.V. Ozuna, M.J. Gimenez, C. Sousa, *et al.* (2018) Low- gluten, nontransgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnol. J.* **16**:902-10.
- Waltz E. (2016) CRISPR-edited crops free to enter market, skip regulation. *Nat. Biotechnol.* **34**(6):582-582.
- Wang Y., X. Cheng, Q. Shan, Y. Zhang, J. Liu, C. Gao & J.L. Qiu (2014) Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat. Biotechnol.* **32**: 947-951.
- Sun Y., G. Jiao, Z. Liu, X. Zhang, J. Li, *et al.* (2017) Generation of high-amylose rice through CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of starch branching enzymes. *Front. Plant Sci.* **8**:1298.
- Zaidi S.S.A., Tashkandi M., Mansoor S., *et al.* (2016) Engineering plant immunity: using CRISPR/Cas9 to generate virus resistance. *Front Plant Sci.* **7**: 1673.
- Zhang Y., Z. Liang, Y. Zong, Y. Wang, J. Liu, *et al.* (2016) Efficient and transgene-free genome editing in wheat through transient expression of CRISPR/Cas9 DNA or RNA. *Nat. Commun.* **7**:12617.
- Zhang H., X. Si, X. Ji, *et al.* (2018) Genome editing of upstream open reading frames enables translational control in plants. *Nat. Biotechnol.* **36**: 894-898.