

**INACTIVACIÓN DE GENES DE SUSCEPTIBILIDAD
AL “HUANGLONGBING” EN *Citrus sinensis* (L.) Osbeck¹**

***Sandra E. Sopalda Prince*², *Ricardo Vergara*³, *Humberto G. Prieto*³**

Introducción: El Huanglongbing es una enfermedad que ataca diversas especies de *Citrus*, causada por la proteobacteria *Candidatus Liberibacter* spp., parásito obligado en el floema. En busca de una alternativa para controlar la enfermedad, se propone implementar las bases técnicas que posibiliten la edición génica (EG) por CRISPR/Cas9 en *Citrus*. **Objetivo:** Inactivar potenciales genes de susceptibilidad mediante edición génica como método para generar resistencia al Huanglongbing. **Materiales y Métodos:** Se diseñaron editores génicos basados en *Geminivirus*, ensamblados a través de la reacción Golden Gate, ligando el vector base pVK, conformado por *cassettes* de expresión de Cas9, la proteína fluorescente verde (GFP) y una pareja de RNAs guías (gRNAs) diseñados a partir de la secuencia del gen candidato de susceptibilidad *CsDMR6*. El vector de edición pVK:CsDMR6-A fue evaluado por un sistema de agroinfiltración de hojas de *C. sinensis*. Se tomaron muestras de ADN aisladas después de ser agroinfiltradas, fueron evaluadas por PCR y secuenciación. **Resultados:** La expresión de GFP en los explantes indicó la transferencia del vector de edición a las células vegetales, validando la posibilidad de utilizar EG en la especie *Citrus*. El ADN analizado presentó una delección aproximada de 5814 pb en el gen blanco, correspondiente a la acción conjunta de ambos gRNAs. La pérdida del fragmento génico permitió validar la construcción del vector pVK:CsDMR6-A, demostrando que éste generó cortes simultáneos en el gen *CsDMR6*, tal como se propuso. Ambas herramientas serán fusionadas en experimentación futura para generar plantas completas que serán evaluadas para el proceso de EG en el germoplasma utilizado.

Palabras clave: *Candidatus Liberibacter* spp., CRISPR/Cas9, edición génica, naranjo dulce.

¹ Proyecto FIS 18-050 SENACYT; IDIAP 501.B.2.34

² Tesis de Maestría. Universidad de Chile. Becaria de SENACYT. Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá.
e-mail: sandra.sopalda@idiap.gob.pa

³ Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), La Platina. Chile.