



CONGRESO CINAP
SOBERANÍA ALIMENTARIA Y
CAMBIO CLIMÁTICO EN
TIEMPOS DE CRISIS

II Simposio Científico CINAP

Modalidad: Comunicación Oral Póster

Inactivación de genes de susceptibilidad mediante edición génica como método para generar resistencia al “Huanglongbing” en *Citrus sinensis* (L.) Osbeck

Sandra Sopalda^{1,2}, Ricardo Vergara³, Humberto Prieto³

¹Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias, Universidad de Chile – Campus Sur, Santiago, Chile. Correo electrónico: sandra.sopalda@gmail.com

²Laboratorio Agrobiotecnología, Instituto de Innovaciones Agropecuarias de Panamá, Centro de Investigación Agropecuaria – Divisa, Herrera, Panamá.

³Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias – La Platina, Santiago, Chile.

Resumen

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*, teniendo como objetivo inactivar potenciales genes de susceptibilidad al Huanglongbing. En este trabajo, se estableció un sistema de cultivo *in vitro*, evaluando distintos medios de propagación e inducción de callos para explantes de *Citrus sinensis*. Estos experimentos mostraron que el mejor sistema de cultivo y regeneración se obtuvo utilizando segmentos internodales en medios CiSM con BAP y GA₃; y para la formación de callos, hojas en medios CiCM, en condiciones de oscuridad. Para este último, 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:C*sDMR6*-A fue evaluado por un sistema de agroinfiltración de hojas de *C. sinensis*. 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. Muestras de ADN aisladas después de ser agroinfiltrados fueron evaluadas por PCR y secuenciación, evidenciando 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:C*sDMR6*-A, demostrándose 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, Cultivo *in vitro*, edición génica, naranjo dulce.



CONGRESO CINAP
SOBERANÍA ALIMENTARIA Y
CAMBIO CLIMÁTICO EN
TIEMPOS DE CRISIS

II Simposio Científico CINAP

CERTIFICADO

El Colegio de Ingenieros Agrónomos de Panamá otorga el presente
certificado a:

Sandra Sopalda Prince

Por su participación como expositor del trabajo:

**Inactivación de genes de susceptibilidad mediante edición génica
como método para generar resistencia al “Huanglongbing” en
Citrus sinensis (L.) Osbeck**

Dado en la ciudad de Santiago – Veraguas, el 14 de octubre de 2022



CONSEJO TÉCNICO NACIONAL
DE AGRICULTURA
JAVIER E. PITTÍ C.
DOCTOR EN BIOLOGÍA
DE ORGANISMOS
IDONEIDAD: 6,474-10-M13-01*

Ph.D. Javier E. Pittí C.
Presidente
X Congreso CINAP



CONSEJO TÉCNICO NACIONAL
DE AGRICULTURA
RUBÉN D. COLLANTES G.
DOC. PHILOSOPHIAE
AGRICULTURA BOT.
IDONEIDAD: 1,978-08-018 *

Ph.D. Rubén Collantes G.
Coordinador General
II Simposio Científico CINAP



CONSEJO TÉCNICO NACIONAL
DE AGRICULTURA
ANOVELA BARBA A.
DOCTOR EN CIENCIAS AGRICOLAS
IDONEIDAD: 4,356-05-M05-018 *

Ph.D. Anovel Barba A.
Secretario
II Simposio Científico CINAP