

MEJORAMIENTO DE PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN *Carthamus tinctorius* POR EDICIÓN GENÉTICA.

Ana Victoria Valdivia Padilla¹, Roberto Ruiz Medrano¹, Berenice Calderón Pérez², Leandro Alberto Núñez Muñoz¹, Beatriz Xoconostle Cázares¹, ¹CINVESTAV-Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Ciudad de México C.P.07360, ²Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Estado de México C.P.55740
beatriz_xoconostle@yahoo.com

Palabras clave: cártamo, CRISPR-Cas9, FAD2-1

Introducción. El cártamo es una planta oleaginosa cuyo principal producto comercializado es el aceite obtenido de sus semillas. México es el tercer país de mayor producción mundial de cártamo con un 15.6% (1). Una de sus características es que su aceite puede contar con 73% de ácido linoleico y 18% de oleico, según su variedad (2). Los aceites vegetales ricos en ácido oleico son más deseables, debido a su estabilidad y beneficios nutricionales. En cártamo, la enzima FAD2-1 con alta expresión en semilla es la responsable de introducir un doble enlace en la posición Δ12 de un ácido oleico y convertirlo en ácido linoleico (3). El objetivo de este proyecto es mejorar genéticamente plantas de cártamo para conseguir una variedad con producción de aceite que posean un mejor perfil de ácidos grasos mediante el sistema CRISPR-Cas9, a través de la modificación del gen *fad2-1*. (4)

Metodología. Se diseñaron primers de la secuencia de referencia obtenida de la base de datos NCBI, y se aisló el gen *fad2-1* por PCR a partir de DNA genómico de cártamo, para su posterior secuenciación. Se evaluaron los gRNA candidatos en cinco diferentes bases de datos y se seleccionaron los tres con mejor porcentaje ON TARGET. Se realizó el ensamblaje del vector Cas9, con tres casetes de expresión de gRNA en tándem. Se transformó cártamo mediante *Agrobacterium tumefaciens* según la metodología descrita por Rani *et al* 2018 (5), para lo que se determinó la dosis letal 90 de glufosinato de amonio para la selección de plantas transformadas.

Resultados

Tabla 1. RNA guías seleccionados

NOMBRE	SECUENCIA	CADENA	% ON TARGET
gRNA07	GTTGCTCACTACGACGGGTCGGAAT	-	58.3
gRNA14	GACGTTGAAAGACAAGTACAAGGGCC	+	54.8
gRNA17	GAAGGAACGTGATCAACACCGAGAAC	-	51.1

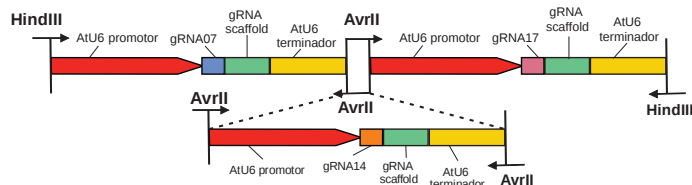


Fig. 1. Ensamblaje de vector Cas9, con expresión de tres gRNA en tándem.



Fig. 2. Localización de RNA guías en gen *fad2-1* de cártamo

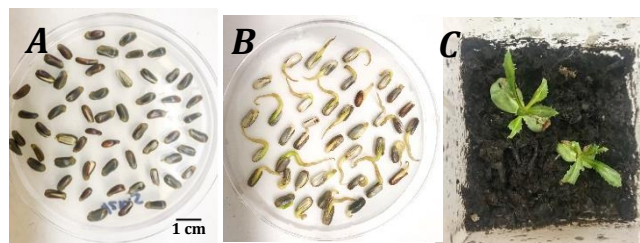


Fig. 3. Pasos involucrados en la transformación de *C. tinctorius* con *A. tumefaciens*: A) Semillas esterilizadas e inoculadas en medio MS. B) Semillas en co-cultivo con *A. tumefaciens* C) Plantas en selección con hojas verdaderas.

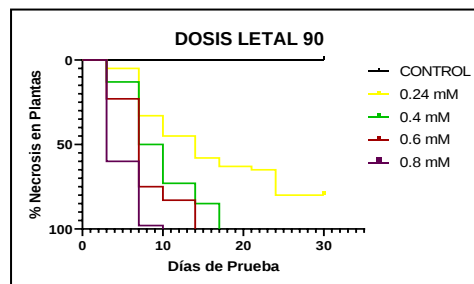


Figura 4. Determinación de dosis letal 90 de glufosinato de amonio para cártamo.

Conclusiones. Se ensambló un vector de expresión Cas9 con múltiples gRNA dirigidos al gen FAD2-1 de cártamo. Se está en proceso de transformación con *A. tumefaciens* y se cuenta con plantas en proceso de selección por resistencia a glufosinato de amonio, para comprobar transformación y edición del gen blanco.

Agradecimientos. A CONACYT por la beca otorgada No.632825. Financiado por el convenio CINVESTAV-SENASICA 2018 y por el proyecto Fronteras de la Ciencia 1234.

Bibliografía

- Montoya L (2010). *INIFAP*. pp 11-22.
- SAGARPA. (2017). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030.
- Cao, S., *et al.* (2013). *BMC Plant Biol.* 13:5-23.
- Arora, L., & Narula, A. (2017). *Front Plant Sci.* 8:1932.
- Rani, A., *et al.* (2018). *J. Plant Biochem and Biotech* 27(3):272–283.