

## “CONTROL DE *Bemisia tabaci* MEDIANTE EDICIÓN DEL GENOMA DE *Glycine max*”

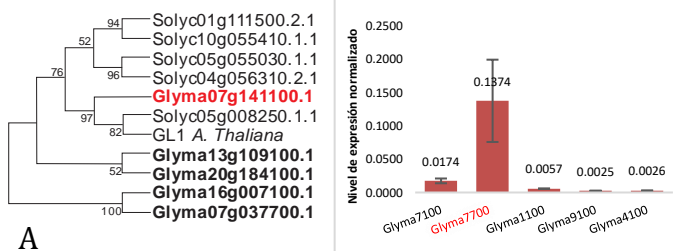
Ing. José Alberto Valenzuela Avilés<sup>1</sup>, Dra. Berenice Calderón Pérez<sup>1,2</sup>, M.C. Leandro Alberto Núñez Muñoz<sup>1</sup>, Dr. Roberto Ruíz Medrano<sup>1</sup>, Dra. Beatriz Xoconostle Cázares<sup>1</sup>. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Av. IPN 2508, San Pedro Zacatenco, Ciudad de México, C.P. 07360. <sup>2</sup>Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Carretera Federal Pachuca - México Km 37.5, Tecámac, Estado de México, C.P. 55740. beatriz\_xoconostle@yahoo.com

*Palabras clave:* soya, CRISPR, *Bemisia tabaci*.

**Introducción.** La soya es la oleaginosa con mayor importancia a nivel mundial. Es la mayor fuente de proteína para alimento animal, y la segunda fuente de aceite vegetal a nivel mundial (1). Representa el 0.5% del PIB nacional y es la oleaginosa con mayor producción en el país; sin embargo, la producción solo abastece el 10.54% de la demanda nacional, lo que hace a México dependiente de otros países para el abastecimiento de soya (2). *Bemisia tabaci* o “mosquita blanca” es una de las principales plagas de soya en México y estudios han demostrado que una elevada densidad de tricomas en soya favorece la oviposición de la mosquita blanca (3). El objetivo de este proyecto es utilizar el sistema de edición genómica CRISPR-Cas9 para realizar un *knock-out* del gen ortólogo al gen *gl1* en soya, responsable del proceso de iniciación de tricomas en *A. thaliana* (4) para obtener variedades productoras de soya glabras.

**Metodología.** Se evaluó la semejanza de cinco genes ortólogos en soya a *AtGL1*, así como la cuantificación de la expresión de estos genes. Con base en su homología y expresión, se eligieron dos genes como blancos para la edición genética. Se seleccionó una región dentro de estos genes donde la edición generaría un *knock-out* de la proteína GL1. Utilizando diversas bases de datos se diseñaron tres gRNAs para cada uno de los genes seleccionados; los tres gRNA dirigidos a un gen se integraron en tándem en un vector de expresión de Cas9. Se transformó soya mediante *Agrobacterium tumefaciens* AGL1, utilizando la metodología descrita por Wang en 2015 (5).

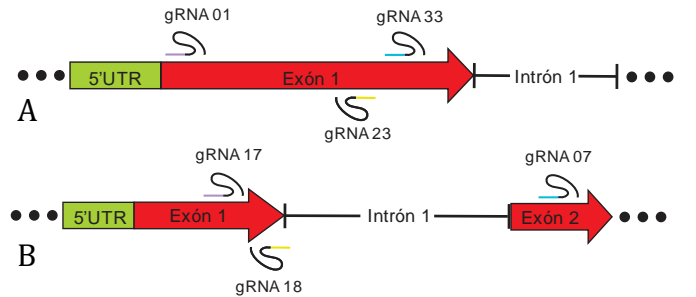
### Resultados



**Fig. 1.** A) Filogenia realizada con MEGA6 para la identificación de genes ortólogos de *gl1* de *A. thaliana* en *G. max* y *S. lycopersicum*. B) Análisis de expresión de genes ortólogos en soya. En rojo los genes seleccionados para edición genética.

**Tabla 1.** Lista de RNA guías diseñados.

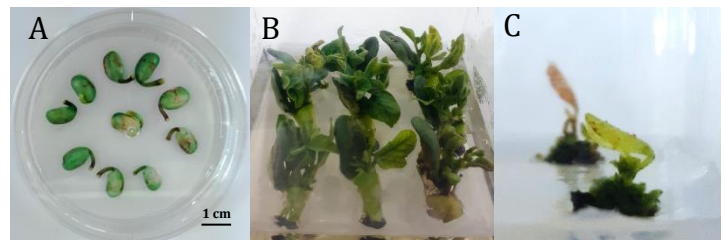
gRNA01	GAGAGATCAACAAGGTGCT	gRNA07	GAAGAGAGGAAATTTTGCGG
gRNA23	GGATGGAACATATTTGGAG	gRNA17	GTGGCATCGTGTTCCTATAC
gRNA33	GGGAGAAGGAAAATGGCAGA	gRNA18	GCAGTTGTACCAGCCAGTAT



**Fig. 2.** Localización de los gRNAs en los genes Glyma7700 (A) y Glyma1100 (B).



**Fig. 3.** Vectores binarios de CRISPR/Cas9 con tres gRNA para la edición de soya mediada por *A. tumefaciens*.



**Fig. 4.** Transformación de soya mediante *A. tumefaciens*. A) Explantes de soya en cocultivo con *A. tumefaciens*. B) Explantes en medio de inducción de brotes. C) Explante en medio de elongación con selección.

**Conclusiones.** Se crearon dos vectores de expresión de Cas9 con tres gRNA cada uno para dirigidos a dos posibles genes ortólogos a *gl1*. Se cuenta con plantas en proceso de selección para comprobar la transformación y la edición de los genes blanco.

**Agradecimientos.** Se agradece al CONACYT por la beca otorgada No. 632823. Financiado por el Convenio CINVESTAV-SENASICA 2018 y por el Proyecto Fronteras de la Ciencia 1234.

### Bibliografía

- (1) Agriculture, U. S. (31 de 01 de 2019). *United States Department of Agriculture Economic Research Service*. Obtenido de Soybeans & Oil Crops : <https://www.ers.usda.gov/topics/crops/soybeans-oil-crops/>
- (2) Baldin, E. et al. (2017). *Econ Entomol*, 1-8.
- (3) Pattanaik, S. et al. (2014). *Frontiers in Plant Science*, 5, 259-259. R
- (4) Paz, M. et al. (2006). *Plant Cell Reports*, 25(3), 206-213.
- (5) SAGARPA. (2017). *Planeación Agrícola Nacional 2017-2030*.

