

El gen AGO4 confiere resistencia a la variedad Fedearroz 2000 contra el Virus de la Hoja Blanca del arroz

Claudia Ocampo², Mathias Lorieux^{1,3}, Thaura Ghneim², Paul Chavarriaga¹, Sandra Valdes¹, Constanza Quintero¹, Maribel Cruz ¹⁻⁴

Introducción

La enfermedad de la hoja blanca del arroz es una de las más devastadoras en América latina. Es causada por el virus *Rice hoja blanca virus* (RHBV), el cual es transmitido por el insecto *Tagosodes orizicolus*¹. Por medio del mapeo de QTL se identificó el gen candidato *AGO4* presente en el *qHBV4.1* asociado a la resistencia al RHBV en la variedad Fedearroz³⁻⁴. Este gen codifica una proteína Argonauta (AGO) involucradas en el silenciamiento de ARN. El cual es el principal mecanismo antiviral que poseen las plantas⁶⁻⁷. Por lo tanto, se empleó el sistema CRISPR/Cas9 para generar líneas editadas en el gen (*ago4-1* y *ago4-2*)⁵. Se observó un incremento en la susceptibilidad al virus en las líneas generadas. Se desea caracterizar la expresión del gen *AGO4* en la variedad Fedearroz 2000 bajo el estrés producido por el virus.

Objetivos específicos

- Obtener líneas editadas tipo “*knockout*” para el gen *AGO4*.
- Evaluar la susceptibilidad al RHBV en las líneas editadas generadas.
- Evaluar los niveles de expresión del gen *AGO4*.

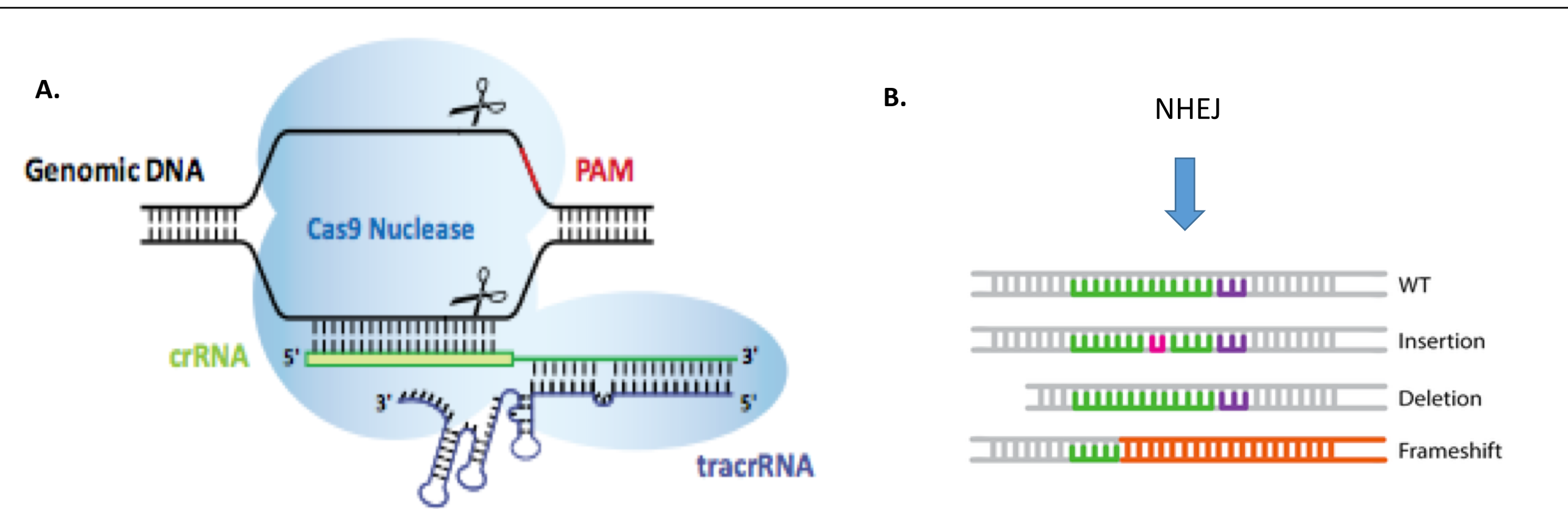


Figura 1: (A) Esquema del sistema CRISPR/Cas9 compuesto por la endonucleasa (Cas9), el ARN guía, y el ADN genómico el cual contiene un sitio PAM. (B) La ruptura de doble cadena del ADN se puede reparar por la vía no homóloga final de unión (NHEJ) la cual es propensa a errores.

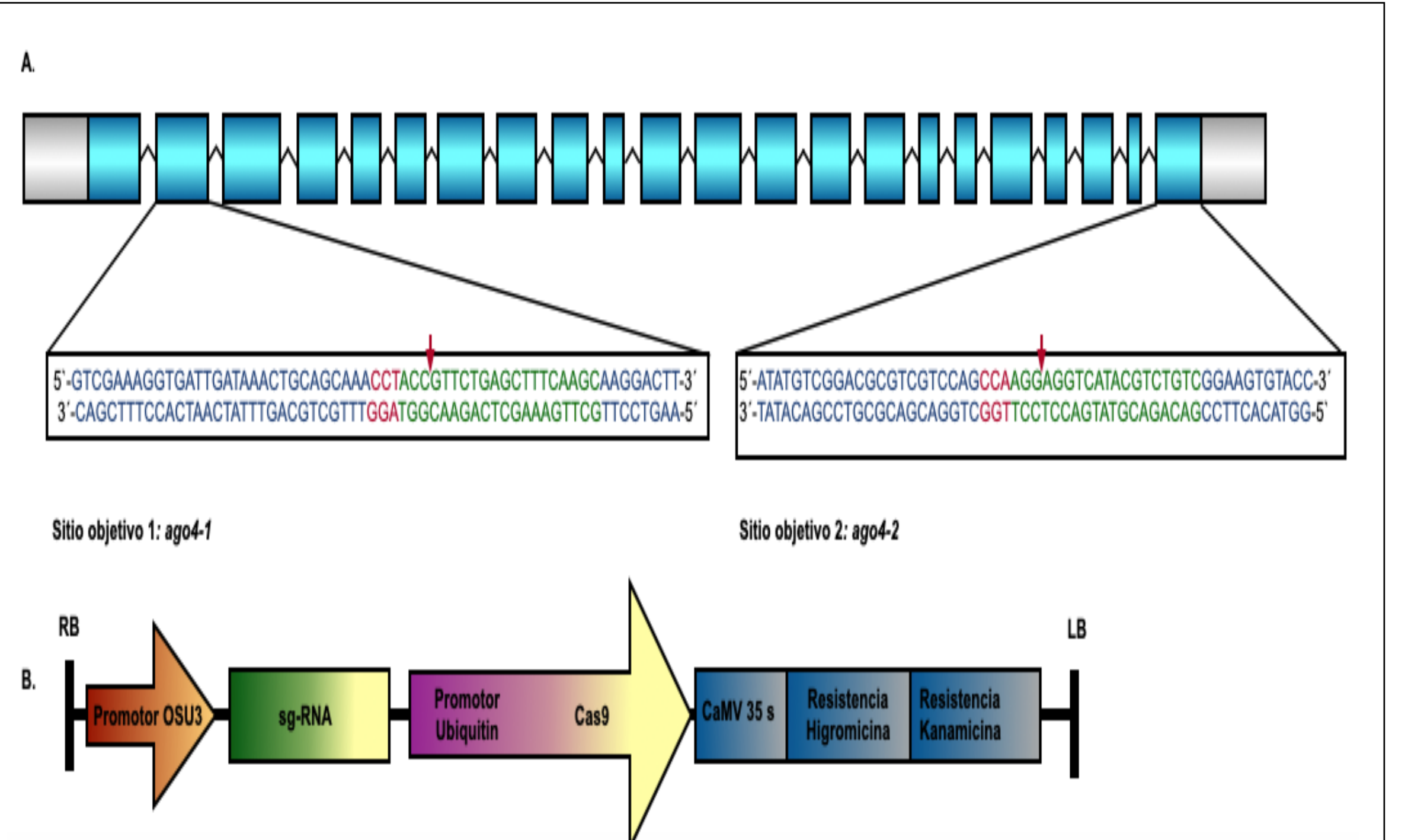


Figura 2: (A) Representación del gen *AGO4* y los sitios objetivo de edición *ago4-1* y *ago4-2*. (B) Estructura del vector para expresión en monocotiledoneas pHUE411 el cual contiene el ARN guía, la Cas9, gen de resistencia a higromicina y gen de resistencia a kanamicina.

Metodología



Figura 3: Esquema de la metodología empleada para la validación del gene *AGO4* por medio de la herramienta de edición de genomas CRISPR/Cas9.

Resultados

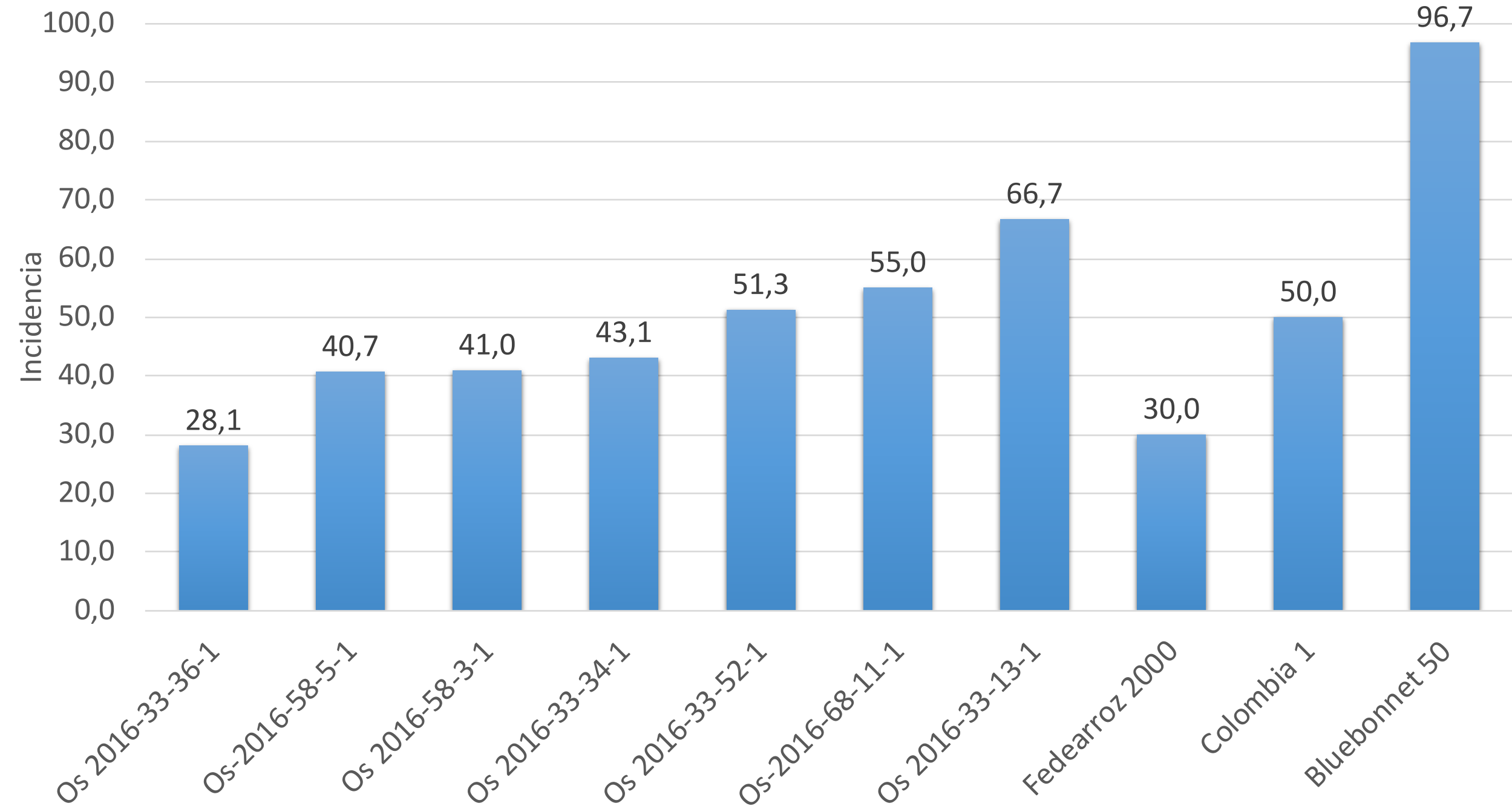


Figura 4: Resultados de la evaluación de la susceptibilidad al RHBV en diferentes líneas *ago4-2* (T1).

Referencias

(1) Morales, F. J., & Jennings, P. R. (2010). Rice hoja blanca: a complex plant–virus–vector pathosystem. *Plant Sci Rev*, 5, 043.
(2) Cruz-Gallego, M., Rebolledo, C., Cuasquer, J., Cruz, D., Peña-Fernández, A. L., Quintero, C., ... & Stuart, J. J. (2018). Identification of new sources of resistance to RHBV-rice hoja blanca virus. *Acta Agronómica*, 67(2), 368-374.
(3) Romero, L. E., Lozano, I., Garavito, A., Carabali, S. J., Triana, M., Villareal, N., ... & Lorieux, M. (2014). Major QTLs control resistance to rice hoja blanca virus and its vector *Tagosodes orizicolus*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 4(1), 133-142.
(4) Silva-Córdoba (2018). Identification of quantitative trait loci (qtl) for rice hoja blanca resistance, the major viral disease of rice in tropical america.
(5) Hiei, Y., & Komari, T. (2008). Agrobacterium-mediated transformation of rice using immature embryos or calli induced from mature seed. *Nature Protocols*, 3(5), 824.
(6) Carbonell, A., & Carrington, J. C. (2015). Antiviral roles of plant ARGONAUTES. *Current Opinion in Plant Biology*, 27(Dcl), 111–117.
(7) Duan, C., Zhang, H., Tang, K., Zhu, X., Qian, W., Hou, Y., Wang, B., Lang, Z., Zhao, Y., Wang, X., Wang, P., Zhou, J., Liang, G., Liu, N., Wang, C., & Zhu, J. (2015). Specific but interdependent functions for Arabidopsis AGO4 and AGO6 in RNA-directed DNA methylation. *The EMBO Journal*, 34(5), 581–592.

¹ Centro internacional de agricultura tropical (CIAT). Palmira, Palmira, Colombia.
² Universidad ICESI
³ Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier, France
⁴ Fondo Latinoamericano para Arroz de Riego (FLAR)

Agradecemos al programa Colombia Científica como fuente de financiación en el marco de la convocatoria: ecosistema científico programa ÓMICAS (Contrato 2017-2018)