



# SECIVTV 2023

XV REUNIÓN DE  
LA SOCIEDAD ESPAÑOLA  
DE CULTIVO *IN VITRO*  
DE TEJIDOS VEGETALES

6, 7 Y 8 DE SEPTIEMBRE  
DE 2023 - LLEIDA

**SEDE**

Auditorio CCCT – Campus Cappont  
Universitat de Lleida  
C/ Jaume II, 67 25001 Lleida

**SECRETARÍA TÉCNICA**

Fundació Universitat de Lleida  
Campus Cappont  
C/ Jaume II, 67 25001 Lleida  
973 00 35 57  
fundacio@udl.cat



**IRTA**



[secivtv2023lleida.es](http://secivtv2023lleida.es)

© Edicions i Publicacions de la Universitat de Lleida, 2023  
© XV Reunión de la Sociedad Española de Cultivo *In Vitro* de  
Tejidos Vegetales SECIVTV 2023  
© del texto: autores de cada contribución  
© de imágenes, tablas y figuras: autores de cada contribución

Editores: Ramon Dolcet-Sanjuan y Ana M. Pelacho

ISBN 978-84-9144-454-1

## Recapitulación del mutante *Arlequín* sin secuencias de DNA foráneo mediante edición CRISPR y posterior segregación del vector molecular

Benito Pineda<sup>1</sup>, Begoña García-Sogo<sup>1</sup>, José Luis Contreras<sup>1</sup>, Ignacio Moreno<sup>1</sup>, Alejandro Atarés<sup>1</sup>, Abraham S. Quevedo-Colmena<sup>2</sup>, Fernando Juan Yuste-Lisbona<sup>2</sup>, Rafael Lozano<sup>2</sup>, Vicente Moreno<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Universitat Politècnica de València, Ingeniero Fausto Elio, s/n, 46022 Valencia.

<sup>2</sup> Dpto. de Biología Vegetal y Ecología, Escuela Politécnica Superior, Carretera de Sacramento s/n, La Cañada de San Urbano, 04120 Almería.

Email de contacto: bpineda@btc.upv.es

Pese a lo valioso que pueda ser, un mutante insercional está sometido a la estricta regulación de los OGMs en la Unión Europea, lo que prácticamente impide su comercialización. ¿Sería posible obtener una fenocopia de un mutante insercional sin secuencias de DNA foráneo? Si se trata de un mutante recesivo de anulación de función, la recapitulación se podría lograr editando la secuencia codificadora y seleccionando un evento de edición funcionalmente similar al del mutante. En el caso de un mutante dominante de ganancia de función, la recapitulación sería mucho más difícil, ya que habría que editar el promotor para lograr un nivel de transcripción similar al del mutante, lo que no sería posible con una estrategia de sobreexpresión (e. g., p35s).

*Arlequín* (*Alq*) es un mutante insercional de tomate, de tipo semidominante, en el que se produce una conversión homeótica de los sépalos en órganos suculentos que maduran como un fruto. Los frutos derivados de los sépales tienen altos niveles de grados Brix, lo que es interesante en el tomate de industria, y los procedentes del ovario tienen parámetros de calidad superiores, lo que es relevante en el tomate para el consumo en fresco (Pineda et al, 2010). La caracterización molecular reflejó que los cambios en el patrón del desarrollo de los sépalos se deben a una expresión ectópica del gen MADS-Box *TAGL1/ALQ*, consecuencia de la inserción de un T-DNA truncado en un dominio que regula la transcripción de dicho gen (Giménez et al., 2010). El análisis funcional de *TAGL1/ALQ* indicó que el gen desempeña un papel importante en el proceso de maduración, y actúa como un regulador clave en otras etapas del desarrollo reproductivo. Así, Ribelles et al (2019) demostraron que el mayor nivel de expresión del gen *TAGL1/ALQ* activa eventos de división celular en el ovario previos al proceso de polinización, lo que conduce a una mayor tasa de cuajado de fruto. Además, el cuajado independiente de polinización y el mayor nivel de citoquininas endógenas conllevan al mantenimiento de la producción en condiciones de salinidad moderada (Ribelles et al., 2019).

Con el fin de obtener una fenocopia de este mutante sin secuencias de DNA foráneo, editamos la secuencia que regula la expresión del gen *TAGL1/ALQ* mediante CRISPR/Cas9. Tras el fenotipado de las plantas editadas en el invernadero, identificamos una que recapitulaba el fenotipo *Arlequín*. Por último, la segregación del vector molecular ha permitido obtener plantas con fenotipo *Arlequín* que serían indistinguibles de un mutante espontáneo.

### Referencias

- Pineda et al (2010). *Plant and Cell Physiology*, 51: 435-447  
 Giménez-Caminero et al (2010). *PlosONE*, 5(12): e14427  
 Ribelles et al (2019). *Journal of Experimental Botany*, 70 (20): 5731-5744

### Agradecimientos

Proyectos de I+D+i PID2019-110833RB-C31 y PID2019-110833RB-C32, financiados por MCIN/ AEI/10.13039/501100011033. El contrato de B.G-S. (PID2019-110833RB-C32) ha sido financiado por MCIN/ AEI/10.13039/501100011033.