

Biotechnological application of potyvirus-based vectors in cucurbit plants

Fakhreddine Houhou

Director : José Antonio Darós Arnau

IBMCP (CSIC-Universitat Politècnica de València)

Resumen

Hoy en día, los virus de las plantas no sólo se perciben como patógenos, sino que también son capaces de establecer una asociación beneficiosa con sus huéspedes y colaborar desde un punto de vista biotecnológico. El virus, como vector, puede ser una herramienta para introducir genes heterólogos en la planta, que se procesarán junto con la información viral y producirán valiosas proteínas recombinantes, metabolitos o nanopartículas. Los vectores virales también son capaces de interferir con la maquinaria de silenciamiento de la planta dando prioridad a los genes virales.

Los potyvirus son virus de ARN de plantas, que codifican principalmente una poliproteína con unas diez proteínas maduras con diferentes funciones, de las cuales las responsables de la supresión del silenciamiento son la proteína componente auxiliar (HC-Pro) y la proteína viral ligada al genoma (VPg). En la primera parte de este trabajo, utilizamos un aislado suave del virus del mosaico de la sandía (WMV; género *Potyvirus*, familia *Potyviridae*) para construir un vector para el silenciamiento génico inducido por virus (VIGS) en plantas de melón. Utilizando este virus como vector, expresamos un fragmento de ARNm de la *Fitoeno desaturasa* (*PDS*) de melón en las modalidades sentido, antisentido y horquilla para investigar el efecto de la construcción viral en el silenciamiento génico. Los resultados mostraron una expresión estable del fragmento de secuencia insertado en la planta en ambas orientaciones, sentido y antisentido, mientras que en la modalidad de horquilla el inserto se perdió pronto. Sin embargo, las tres construcciones indujeron el silenciamiento del gen *PDS* endógeno. Se confirmó la utilidad del WMV para el análisis genético inverso en melón expresando un fragmento de la subunidad I de la quelatasa de magnesio (*CHLI*). En general, nuestros resultados apoyaron que el vector WMV es útil para aplicar la tecnología VIGS en melón y, posiblemente, en otras cucurbitáceas.

En la segunda parte de este trabajo, con el objetivo de fortificar las frutas comestibles con metabolitos promotores de la salud, se utilizó un vector de ARN viral derivado del virus del mosaico amarillo del calabacín (ZYMV; género *Potyvirus*, familia *Potyviridae*) para expresar una fitoeno sintasa bacteriana (*crtB*) en los frutos del calabacín (*Cucurbita pepo* L.). Esta enzima cataliza el primer paso de la biosíntesis de carotenoides. La expresión de la *crtB* mediada por el ZYMV dio lugar a la sobreacumulación de una serie de metabolitos de carotenoides y tocoferoles, concretamente α - y β -caroteno (provitamina A), luteína y fitoeno, así como α - y γ -tocoferol (vitamina E), tanto en la piel como en la pulpa del calabacín. Este resultado ilustra cómo se pueden enriquecer metabólicamente las frutas comestibles utilizando vectores virales sin modificar el genoma de la planta.