

## Resumen

Las rosas son los arbustos ornamentales más importantes del mundo, su edición genética busca mejorar características físicas para satisfacer la demanda comercial y reducir las pérdidas de los cultivares por ataques de plagas o estrés ambiental. El mecanismo de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente interespaciadas (CRISPR) es un sistema de la naturaleza conformado por un ARN guía (sgRNA) y la endonucleasa Cas utilizados como una herramienta conjunta de edición génica. El presente proyecto de titulación tiene como objetivo el implementar la tecnología CRISPR/Cas9 en la edición genética de cuatro variedades de rosas en el gen de la enzima Fitoeno desaturasa (PDS). Se implementó esta tecnología para la edición *in vitro* de los exones 5, 6, 7 y 8 de PDS de rosas, como una prueba de concepto que permita validar CRISPR/Cas9 en estas plantas. Primero se realizó la extracción de ADN y amplificación del gen objetivo, posteriormente se analizó la variabilidad alélica de la región en todas los cultivares para diseñar los sgRNA. Las guías obtenidas tuvieron altos porcentajes de especificidad y mínimos efectos off-target, en consecuencia, se obtuvo un experimento exitoso en escisión *in vitro* de todos los exones por CRISPR/Cas9. Se recomienda realizar estudios *in vivo* para evaluar la eficiencia del ensayo y determinar los mutantes mediante estudios de restricción.

### Palabras clave:

- ROSA SPP.
- CRISPR/CAS9
- EDICIÓN GENÉTICA
- FITOMEJORAMIENTO
- FITOENO DESATURASA (PDS)

## **Abstract**

Roses are the most important ornamental flowers in the world; genetic editing of these plants seeks to improve their phenotype to meet commercial demand and reduce losses due to pest attacks or environmental stress. The clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) mechanism is a natural system consisting of a guide RNA (sgRNA) and Cas endonuclease used as a joint gene editing tool. The objective of this project was to implement CRISPR/Cas9 technology for the genetic edition of the Phytoene desaturase (PDS) gene of four rose varieties. This technology was implemented for in vitro gene editing of exons 5, 6, 7 and 8 of PDS in roses as a proof of concept to validate CRISPR/Cas9 in these plants. First, DNA extraction and amplification of the target gene was performed, then the allelic variability of the region was analyzed in all cultivars to design the sgRNAs. The obtained guides had high specificity percentages and minimal off-target effects, consequently, a successful experiment was obtained in the in vitro excision of Cas9 in all exons. In vivo studies are recommended to evaluate the efficiency of the assay and to determine mutants by restriction assays.

### **Key words:**

- **ROSE SPP.**
- **CRISPR/CAS9**
- **GENE EDITING**
- **PLANT BREEDING**
- **PHYTOENE DESATURASE (PDS)**