

O12: ¿Podemos mejorar una cepa de *Beauveria bassiana* biocontroladora de la chinche de la soja *Piezodorus guildinii* combinando métodos de biología molecular y datos de secuenciación masiva?

Oberti H¹, Sessa L¹, Sanchez-Vallet A², Navarrete F³, Seidl M⁴, Pessio M⁵, Cibils X⁵, Abreo E¹

¹ Laboratorio de Bioproducción, Plataforma de Bioinsumos, INIA Las Brujas, Canelones, Uruguay ² Laboratorio de Mecanismos Moleculares de Virulencia en Hongos Patógenos de Plantas, CBGP, Madrid, España ³ Centro de Investigación en Genómica Agrícola, Barcelona, España ⁴ Theoretical Biology and Bioinformatics, Department of Biology, Faculty of Science, Utrecht, Netherlands ⁵ Laboratorio de Entomología, INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay

hoberti@inia.org.uy

La chinche de la soja *Piezodorus guildinii* es un insecto fitófago que produce grandes pérdidas en la producción de soja y requiere la aplicación de insecticidas químicos. Además, presenta grados de resistencia a éstos y a enemigos naturales. Entre estos últimos, aislamientos de la especie *Beauveria bassiana* ILB308, ILB205 e ILB299 han mostrado virulencia decreciente hacia adultos de *P. guildinii* en ensayos *in vitro*. Es necesaria una comprensión integral de los genes involucrados en los mecanismos de acción de biocontrol para iniciar un proceso de mejoramiento de estas cepas. Para ello, se secuenciaron los genomas mediante Illumina paired-end 150pb y fueron ensamblados mediante SPAdes. Los genomas ensamblados de estas tres cepas (38-39Mb) se anotaron estructural y funcionalmente. Inicialmente, se realizó un ajuste de la transformación mediante *Agrobacterium tumefaciens* en la cepa ILB308 -de alta virulencia hacia *P. guildinii*- y el *knock out* (KO) dirigido en esta cepa. Este KO se realizó en un gen que codifica una enzima activa en carbohidratos identificada *in silico* como posible factor de virulencia usando herramientas como EffectorP y la base de datos de Interacciones Hospedero-Patógeno (PHI). También se obtuvieron mutantes mediante inserción aleatoria de T-DNAs para realizar un *screening* mediante genética reversa de posibles genes de interés. En paralelo, se implementó un ensayo de RNAseq dual (hongo-insecto) a los 4 días de iniciada la infección, y en diferentes condiciones de crecimiento axenico con el fin de identificar la expresión de genes particulares de cada cepa involucrados en la infección cuya función pueda ser verificada mediante KO y sobreexpresión. Finalmente, los genes identificados podrán ser usados para obtener una cepa mejorada mediante distintas técnicas. De esta forma, buscamos generar marcadores moleculares que, al igual que en especies vegetales, ayuden a dirigir cruzamientos de cepas con características de interés. De igual forma, estos pueden ser utilizados para realizar transformación génica en cepas que faciliten la obtención de cepas con mayor virulencia hacia un insecto de difícil control.

Financiamiento: INIA SA_47, ANII_FMV_1_2021_1_169591, RYC2018-025530-I MCIN/AEI /10.13039/501100011033, EI FS