

Resumen

El banano se ha convertido en un alimento básico para millones de personas y sobre todo un cultivo de importancia económica para varios países en vías de desarrollo. En Ecuador, el banano representa uno de los principales productos de exportación pero su producción se encuentra seriamente amenazado debido al marchitamiento por *Fusarium* causado por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. El control del patógeno presenta dificultad debido a que logra sobrevivir durante muchos años en el suelo inclusive en ausencia de hospedador. Actualmente, no existe un control químico efectivo contra Foc TR4, además de que no se ha visto un resultado positivo en la contención del patógeno por lo que su dispersión ha puesto en alerta fitosanitaria a muchos países productores de banano. Una posible solución a este problema es la producción de biopesticidas mediante biología sintética, en este caso se planea utilizar la tecnología de silenciamiento de genes basado en la interferencia de RNA para la producción de moléculas de RNA de doble cadena, lo que permite silenciar la expresión de genes diana específicos del patógeno. Esto se logró mediante la clonación de cDNA a partir del gen *SIX Gene Expression 1 (SGE1)* en el plásmido PSB1C3_A593, esto se realizó mediante ensamblaje de restricción y ligación. El cassette de expresión obtenido PSB1C3_A593 + *SGE1* es capaz de producir RNA de doble cadena para el silenciamiento del gen *SGE1*, este gen demostró ser esencial para la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. El plásmido PSB1C3_A593 + *SGE1* se utilizó para la transformación bacteriana de *E. coli* y se comprobó mediante PCR de colonia. Adicionalmente, se realizó 3 tratamientos de transformación bacteriana a diferentes temperaturas de shock térmico ($T_1=40^{\circ}\text{C}$, $T_2=42^{\circ}\text{C}$ y $T_3=44^{\circ}\text{C}$) por un tiempo de 30 segundos.

Palabras clave: ensamblaje de restricción y ligación, RNA de interferencia, transformación bacteriana.

Abstract

Banana has become a staple food for millions of people and above all a crop of economic importance for several developing countries. In Ecuador, banana represents one of the main export products, but its production is severely threatened due to Fusarium Wilt of Banana caused by the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Control of the pathogen is difficult because it manages to survive for many years in the soil, even in the absence of a host. Currently, there is no effective chemical control against Foc TR4, in addition to the fact that no positive result has been seen in the containment of the pathogen, which is why its dispersion has put many banana-producing countries on phytosanitary alert. A possible solution to this problem is the production of biopesticides through synthetic biology, in this case it is planned to use gene silencing technology based on RNA interference to produce double-stranded RNA molecules, which allows silencing the expression pathogen-specific target genes. This was done by cloning cDNA from the *SIX* Gene Expression 1 (*SGE1*) gene into plasmid PSB1C3_A593, this was done by restriction and ligation assembly. The expression cassette obtained PSB1C3_A593 + *SGE1* can produce double-stranded RNA for the silencing of the *SGE1* gene, this gene stands out to be essential for the pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Plasmid PSB1C3_A593 + *SGE1* was used for *E. coli* transformation and checked it by colony PCR. Additionally, 3 bacterial transformation treatments were carried out at different heat shock temperatures (T1=40°C, T2=42°C and T3=44°C) for a period of 30 seconds.

Keywords: digest and ligate assembly, RNA interference, bacterial transformation.