

## Resumen

El banano es el cultivo más importante en las regiones tropicales a nivel mundial, representa un porcentaje importante al PIB de estos países, como en el caso de Ecuador. Es categorizado como alimento de primera necesidad por su alto nivel nutricional. Sin embargo, existen varias enfermedades que atacan al cultivo del banano. La fusariosis del banano es causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* es una de las principales causas en las pérdidas de la industria bananera. Por esta razón es de suma importancia encontrar alternativas para neutralizar la fusariosis en el banano. El silenciamiento genético a través de la tecnología de RNA de interferencia (RNAi) es una estrategia exitosa y aprobada por investigadores de todo el mundo para contrarrestar agentes patógenos que afectan al negocio agrícola. En el presente proyecto se obtuvo un ensamblaje con el plásmido PSB1C3\_A593 con el gen *Velvet* mediante la técnica de restricción-ligación. Este ensamblaje producirá dsRNA del gen *Velvet* para fabricar RNAi capaz de contrarrestar *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. El plásmido ensamblado PSB1C3\_A593+Velvet se transformó en *E. coli* One Shot TOP10 y HT115. Además, se analizaron 3 tratamientos (t1=30s, t2=45s y t3=60s) para mejorar la eficiencia de transformación en *E. coli* HT115 mediante el cambio en el tiempo de shock térmico. Se obtuvo una eficiencia de transformación en *E. coli* HT115 para el tratamiento t=30s de 1102,9 UFC/ $\mu$ g, t=45s de 13161,8 UFC/ $\mu$ g y t=60s de 5171,6 UFC/ $\mu$ g, la mejor eficiencia de transformación resultó ser el tratamiento t=45s. Las colonias transformadas con el plásmido pSB1C3\_A593+Velvet se verificó a través de PCR de colonias.

*Palabras claves:* RNA de interferencia, RNA de doble cadena, cepa HT115, restricción, ligación.

### Abstract

Bananas is the most important crop in tropical regions worldwide, representing an important percentage of the GNP of these countries, as in the case of Ecuador. It is categorized as a staple food because of its high nutritional value. However, there are several diseases that attack the banana crop. *Fusarium* wilt is caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and is one of the main causes of economical losses in the banana industry. For this reason, it is of utmost importance to find alternatives to neutralize *fusarium* wilt in banana. Gene silencing through RNA interference (RNAi) technology is a successful strategy approved by researchers worldwide to counteract pathogens that affect the agricultural business. In the present project, an assembly with the plasmid PSB1C3\_A593 and *Velvet* gene was obtained by restriction-ligation technique. This assembly will produce dsRNA from the *Velvet* gene to make RNAi capable of counteracting *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. The assembled plasmid PSB1C3\_A593+*Velvet* was transformed into *E. coli* One Shot TOP10 and HT115. In addition, 3 treatments (t1=30s, t2=45s and t3=60s) were analyzed to improve the transformation efficiency by changing the thermal shock time. A transformation efficiency in *E. coli* HT115 was obtained for the t=30s treatment of 1102.9 CFU/ $\mu$ g, t=45s of 13161.8 CFU/ $\mu$ g and t=60s of 5171.6 CFU/ $\mu$ g, the best transformation efficiency resulted to be the t=45s treatment. Colonies transformed with the pSB1C3\_A593+*Velvet* plasmid were verified by PCR colony.

*Keywords:* interfering RNA, double-stranded RNA, HT115 strain, restriction, ligating.