

Resumen

Fusarium oxysporum f. sp. cubense raza 4 (FOC R4T) es un fitopatógeno que, en la actualidad, se presenta como un problema grave para los sembríos de banano en latinoamérica, debido a que causa necrosis en la planta, lo que produce su marchitez y su deceso. Al ser un fitopatógeno letal de musáceas, esta investigación busca desarrollar un sistema de vector binario de *Agrobacterium tumefaciens* para la edición del promotor del gen RGA2 de banano, con el fin de sobreexpresar la resistencia que provoca este gen ante FOC R4T

El siguiente trabajo pretende transformar *Agrobacterium tumefaciens* a partir de la extracción del ADN plasmídico de *Escherichia coli* transformado a partir de los trabajos de titulación del semestre pasado, que contiene el gen RGA2. Para ello, se aplicó el choque térmico y la electroporación como métodos de transformación genética y se evaluó la eficiencia de transformación de estos a través de la relación de la CFU sobre la cantidad de ADN plasmídico insertado. Además, se confirmó la presencia de la región promotora en el germoplasma del banano a través de técnicas moleculares. Por último, se evaluó la viabilidad de crioconservación de tres agentes crioprotectores (glicerol, DMSO, polietilenglicol) a diferentes concentraciones (10% y 20%), para la conservación de *A. tumefaciens*. Los resultados obtenidos muestran la eficiencia de transformación de los protocolos estandarizados que se aplicaron, siendo la electroporación el método más eficiente. Así mismo, se muestra la viabilidad de conservación de los crioprotectores aplicados, determinando que los tres crioprotectores aplicados son eficientes para la crioconservación de *A. tumefaciens*.

Palabras clave: fitopatógeno, fusariosis, transformación.

Abstract

Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* race 4 (FOC R4T) is a phytopathogen that is currently a serious problem for banana plantations in Latin America, because it causes plant necrosis, which leads to wilting and death. Being a lethal phytopathogen of musaceae, this research seeks to develop a binary vector system of *Agrobacterium tumefaciens* for editing the promoter of the RGA2 gene of banana, to overexpress the resistance caused by this gene to FOC R4T.

The following work aims to transform *Agrobacterium tumefaciens* from the extraction of transformed *Escherichia coli* plasmid DNA from last semester's titration work, which contains the RGA2 gene. For this purpose, heat shock and electroporation were applied as genetic transformation methods and the transformation efficiency of these was evaluated through the ratio of CFU over the amount of inserted plasmid DNA. In addition, the presence of the promoter region in banana germplasm was confirmed through molecular techniques. Finally, the cryopreservation viability of three cryoprotective agents (glycerol, DMSO, polyethylene glycol) at different concentrations (10% and 20%) was evaluated for the preservation of *A. tumefaciens*. The results obtained show the transformation efficiency of the standardized protocols applied, being electroporation the most efficient method. Likewise, the viability of conservation of the cryoprotectants applied is shown, determining that the three cryoprotectants applied are efficient for the cryopreservation of *A. tumefaciens*.

Keywords: phytopathogen, fusariosis, transformation.