



SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN
PÚBLICA

SEP
Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica

SUBSECRETARÍA DE
EDUCACIÓN SUPERIOR

Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica



Dirección General de Educación Superior Tecnológica

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL, YUCATÁN

PURIFICACIÓN DE UNA PROTEÍNA CON ACTIVIDAD DE β -1,3-GLUCANASA EN PLÁNTULAS DE *Capsicum Chinense* Jacq EXPUESTAS A HOMOGENADOS DE PAREDES CELULARES DE *Phytophthora capsici* Leo TESIS

Que presenta:

YENY LIZZET COUOH UICAB

Como requisito parcial para obtener el título de:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA



Conkal, Yucatán, México
2006

BIBLIOTECA

Índice

	Página
I INTRODUCCIÓN	1
II REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Generalidades de <i>Capsicum</i>	3
2.1.1 Importancia mundial del chile	4
2.1.2 Importancia del chile en México	4
2.1.3 <i>Capsicum chinense</i> Jacq.	5
2.1.3.1 Clasificación taxonómica	7
2.1.3.2 Plagas que afectan a <i>Capsicum chinense</i>	8
2.1.4 <i>Phytophthora capsici</i>	10
2.1.4.1 Clasificación taxonómica	11
2.1.4.2 Características de los hongos	12
2.2 Interacción planta-patógeno	13
2.2.1 Defensa local	16
2.2.2 Resistencia sistémica adquirida	17
2.3 Proteínas relacionadas a patogénesis	17
2.3.1 Clasificación de las proteínas PR	18
2.3.2 β -1,3 glucanasas	19
III OBJETIVOS	24
3.1.- Objetivo general	24
3.2.- Objetivos particulares	24
IV HIPÓTESIS	25
V MATERIALES Y MÉTODOS	26
5.1 Cultivo <i>in Vitro</i> de <i>Phytophthora capsici</i>	26
5.2 Plántulas de <i>C. chinense</i> inoculadas con homogenados de <i>P. capsici</i>	26
5.3 Extracción de proteínas	27
5.4 Cuantificación de proteína	27

5.5 Actividad de β -1,3-glucanasa en plántulas de <i>C. chinense</i>	28
5.6 Ensayo en solución de la actividad de β -1,3-glucanasa	28
5.7 Purificación de β -1,3-glucanasa.	30
5.8 Isoelectroenfoque	31
5.9 Producción de anticuerpos policlonales contra la proteína pura	32
5.9.1 Dot Blot	33
5.9.2 Western Blot	34
VI RESULTADOS	35
6.1 Plántulas de <i>Capsicum chinense</i> inoculadas con homogenados de pared celular de <i>Phytophthora capsici</i>	35
6.2 Purificación de la proteína con actividad de β -1,3-glucanasa	36
6.2.1 Fraccionamiento de proteína en columna CM-Sephadex C25	36
6.2.2 Fraccionamiento de muestra C1 en columna Q- Fast	39
6.3 Isoelectroenfoque	41
6.4 Colecta de suero inmune y ensayo de inmunoreconocimiento por Dot blot	42
6.5 Análisis del inmunoreconocimiento a través de Western blot	43
6.6 Resumen del proceso de purificación de la proteína con actividad de β -1,3-glucanasa	44
VII DISCUSIÓN	45
VIII CONCLUSIONES	50
IX LITERATURA CITADA	51
X APÉNDICE	60

Resumen

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es uno de los cultivos más importantes en el estado de Yucatán. Este cultivo es atacado por diferentes patógenos como son virus, hongos, bacterias, nematodos y algunos oomicetos, entre estos últimos destaca *Phytophthora capsici* debido a que causa grandes pérdidas en la producción de este cultivo. Ante el ataque de estos patógenos las plantas son capaces de activar mecanismos de defensa que limitan el avance de los patógenos. Una de las estrategias empleadas es la síntesis de proteínas relacionadas a patogénesis (PRs) tales como la β -1,3-glucanasas y las quitinasas las cuales son capaces de inhibir el crecimiento de *Phytophthora capsici* ya que degradan los enlaces β -1,3-glucano de la pared celular de este patógeno. Se ha visto que los mecanismos de defensa de las plantas pueden ser activados si se inducen con homogenados de pared celular de diferentes hongos. En el presente trabajo se describe el comportamiento de la actividad de las β -1,3-glucanasas después de que plántulas de *C. chinense* fueron inducidas con diferentes concentraciones de homogenados de pared celular de *P. capsici*. Además se describe la implementación de un protocolo de purificación de la proteína con actividad de β -1,3-glucanasa la cual exhibió un punto isoeléctrico (pl) de 5.25 y un peso molecular de ~26 kDa.