

Índice

Resumen	1
1. Introducción	3
2. Marco teórico	5
2.1 Origen y botánica de plátano	5
2.2 Clasificación Taxonómica	6
2.3 Economía de la producción a nivel mundial	7
2.4 El cultivo de plátano en México	8
2.5 Usos de plátano	10
2.6 El Plátano Chifle en México	13
2.7 Enfermedades de plátano: los casos de la Sigatoka negra y mal de Panama	13
2.7.1 La Sigatoka negra	13
2.7.2 El mal de Panamá	14
3.8 La biotecnología en el cultivo de banano	15
2.9 Embriogénesis somática	16
2.10 Transformación genética de plantas	18
2.11 Mecanismos moleculares de resistencia a patógenos	21
2.12 Factores de transcripción de plantas y su participación en la resistencia al estrés biótico	25
2.13 Factores de transcripción del tipo ERF	27
2.14 Los genes <i>TaPIEP1</i> y <i>TaERF1</i> de trigo, y su función en la resistencia a patógenos	27

3. Justificación	28
4. Hipótesis	29
5. Objetivos	30
5.1 Objetivo general	30
5.2 Objetivos específicos	30
6. Estrategia experimental	31
7. Materiales y métodos	32
7.1 Transformación de <i>Escherichia coli</i> (cepa DH10B) con el vector pCAMBIA 2201 que contiene al gen reportero <i>Gus</i> y al gen de selección <i>NPTII</i>	32
7.2 Extracción del plásmido pCAMBIA 2201	32
7.3 Cultivo de suspensiones embriogénicas (SE) de plátano cultivar Macho 'Chifle' (AAB)	35
7.4 Transformación genética del cultivar 'Chifle' mediante biobalística	36
7.5 Maduración de los embriones en medio de selección	37
7.6 Germinación de embriones	37
7.7 Identificación de secuencias homólogas a MaPIEP1 y MaERF1 en plátano	38
7.8 Obtención de los marcos abiertos de lectura de MaPIEP1 y MaERF1	38
7.9 Alineamiento múltiple de secuencias	39
7.10 Análisis filogenético	39
8. Resultados	39
8.1 Proliferación de células embriogénicas (CE) en medio BL	39
8.2 Maduración de Embriones	40
8.2.1 Medio M3	40

8.2.2 Modificación del medio de maduración	41
8.3 Germinación en medio M4 con ácido ascórbico	42
8.4 Identificación de secuencias homólogas a TaPIEP1 y TaERF1 en plátano	45
8.5 Análisis de los marcos abiertos de lectura de <i>MaPIEP1</i> y <i>MaERF1</i>	46
8.6 Análisis de los alineamientos de MaPIEP1 y MaERF1 con otras proteínas similares	52
8.7 Análisis de las relaciones filogenéticas de MaPIEP1 y MaERF1	54
9. Discusión	56
10. Conclusiones	62
11. Perspectivas.....	63
12. Bibliografía	64

Resumen

El plátano es uno de los frutos más populares en el mundo y en términos de seguridad alimentaria, uno de los más importantes. En varios países en desarrollo, el plátano proporciona una rica fuente de carbohidratos, vitaminas y minerales, así como de ingresos económicos. En México, se producen alrededor de 2.1 millones de toneladas anuales que sostienen la economía de muchas familias. Sin embargo, este monocultivo es susceptible a enfermedades ocasionadas por patógenos de tipo viral, bacteriano y fúngico. Entre las enfermedades más problemáticas que afectan la producción de plátano y que ponen en riesgo la seguridad alimentaria, se encuentran las enfermedades de tipo fúngico, como es el caso de la Sigatoka negra y el mal de Panamá ocasionadas por los hongos *Mycosphaerella fijiensis* y *Fusarium oxysporum*. Una estrategia ideal para combatir a estos patógenos es mediante el desarrollo de variedades resistentes haciendo uso de la biotecnología. Para lograr estas variedades mejoradas se requiere de establecer protocolos de transformación genética que permitan introducir genes con el potencial de conferir resistencia a enfermedades. El objetivo del presente proyecto de tesis fue iniciar con el establecimiento de un protocolo de transformación genética de plátano cv. Chifle (AAB) mediante biobalística en el CICY y aislar *in silico* a dos genes que codifican para factores de transcripción de la familia ERF que podrían estar involucrados en la resistencia a patógenos. Entre los resultados más destacados podemos mencionar, el establecimiento de las condiciones para la transformación por biobalística de suspensiones embriogénicas del cv. Chifle. Se encontró que la distancia óptima de bombardeo fue de 6 cm y también se detectaron varios puntos clave para la mejora del proceso de transformación. En cuanto al aislamiento *in silico* de los genes de interés, se logró la identificación de los genes *MaPIEP1* y *MaERF1* cuyas proteínas presentaron el dominio de unión a ADN (AP2/ERF), lo que sugiere que estas proteínas de plátano podrían unirse al ADN y actuar como factores de transcripción para activar en este caso genes de defensa. El análisis filogenético mostró que las proteínas *MaPIEP1* y *MaERF1* de plátano se agruparon en los clados IX y VII, respectivamente donde se agruparon genes ERF

involucrados en la resistencia a patógenos, por lo que MaPIEP1 y MaERF1 son candidatos interesantes para ser transferidos a suspensiones embriogénicas de plátano mediante biobalística para evaluar su potencial de conferir resistencia a los patógenos que afectan la producción de este cultivo.