



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Unidad de Posgrado

**Evaluación del gen que codifica la enzima β -
Hidroxipalmitato metil éster hidrolasa (β HPMEH)
para la inhibición de la marchitez bacteriana causada
por *Ralstonia solanacearum* por expresión en *Solanum
tuberosum* “papa”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Biología

Molecular

AUTOR

Elizabeth FERNANDEZ HUAYTALLA

ASESOR

Jan Frederik KREUZE KREUZE

Débora Elizabeth ALVARADO IPARRAGUIRRE

Lima, Perú

2016

Evaluación del gen que codifica la enzima β -Hidroxipalmitato metil éster hidrolasa (β HPMEH) para la inhibición de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* por expresión en *Solanum tuberosum* “papa”.

RESUMEN

La marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* E.F. Smith es la más importante enfermedad bacteriana que ataca a cultivos agrícolas como papa, tomate, banana, etc. causando grandes pérdidas en la producción. Desafortunadamente, su control ha sido difícil por su amplio rango de hospederos alternativos, por su supervivencia en el suelo, por su variación biológica y genética, por su poca fuente de resistencia natural y por no contar con métodos químicos apropiados. La búsqueda de métodos que confieran resistencia en una variedad de importancia alimenticia y económica sería una ventaja muy significativa. Sin embargo, es necesario primero conocer cómo el patógeno logra desarrollar la enfermedad en su hospedero, como se comunica y que estrategia usa para ser virulento y causar daño en la planta. *Ralstonia solanacearum* posee un sistema *quorum sensing* para la regulación de la expresión de genes de virulencia, la molécula 3-OH-PAME es el autoregulador de esta señal. Adicionalmente se conoce que la molécula BHPMEH hidroliza a 3-OH-PAME anulando así la señal de virulencia y por tanto la comunicación *quorum sensing* en *R. solanacearum*. Con este objetivo se realizó la evaluación del gen β hpmeh. Para ello, se diseñaron 2 vectores que expresen este gen los cuales fueron verificados por análisis de restricción y secuenciamiento para posteriormente, mediante técnicas de Agroinfiltración, observar su expresión y su efecto frente a *R. solanacearum* en hojas de papa *Solanum tuberosum*. Los resultados de la expresión transitoria muestran que el gen β hpmeh retrasó la aparición de síntomas de la marchitez bacteriana y por lo tanto es un candidato para la transformación genética de *S. tuberosum*.

Palabras clave: Expresión transitoria, marchitez bacteriana, *quorum sensing*, *Ralstonia solanacearum*, *quorum quenching*.

Evaluation of the gene that encodes the enzyme β -Hydroxypalmitate methyl ester hydrolase (β HPMEH) for inhibition of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* by expression in *Solanum tuberosum* “potato”

ABSTRACT

Ralstonia solanacearum is the causal agent of the devastating bacterial wilt disease that attacks important agricultural crops such as potato, tomato, banana, etc., causing serious yield losses. Control of *R. solanacearum* is difficult because of its wide range of alternative hosts, its long survival in soil, its biological and genetic variation, the lack of natural resistance sources and the lack of appropriate measures of chemical control measures. Therefore, the search for methods that confers resistance in one nutritious and economically important variety is a very significant advantage. However, it is necessary to know the pathogen and its ability to develop the disease in their hosts, how it communicates, or what strategy uses to be virulent and cause damage to the plant. *Ralstonia solanacearum* has a *quorum sensing* system for the regulation of the expression of virulence genes; the molecule 3-OH-PAME is the self-regulatory signal. The molecule BHPMEH hydrolyzes 3-OH-PAME nullifying the signal of virulence, and thus, the *quorum sensing* communication in *R. solanacearum*. With this purpose, we designed two vectors to evaluate the expression of the *β hpmeH* gene in potato and its effect on controlling *R. solanacearum*. Both vectors were verified by restriction analysis and sequencing. Agroinfiltration assays were used to analyze gene expression and the effect against *R. solanacearum* in potato (*Solanum tuberosum*) leaves. The results of the transient expression experiments showed that the expression of gene *β hpmeH* caused a delay in the appearance of symptoms of bacterial wilt and thus is a good candidate for whole genetic plant transformation.

Key words: bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*, *quorum sensing*, *quorum quenching*, transient expression.