

CONTENIDO

Portadilla	
Carta de autorización de impresión	
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	v
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 generalidades	1
1.2 Objetivos	2
1.2.1 Objetivo general	2
1.2.2 Objetivos particulares	2
1.3 Hipótesis	2
1.4 Justificación	3
1.5 Programa y cronograma	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 Antecedentes	5
2.2 Daños por baja temperatura	6
2.3 Principios de clonación molecular	7
2.4 Técnicas de identificación de ácidos nucleicos	8

2.4.1 Sondas de ácidos nucleicos	8
2.4.2 Hibridación de ácidos nucleicos	8
2.4.3 Hibridación de colonias bacterianas	9
2.4.4 Hibridación tipo Dot Blot	9
2.4.5 Hibridación tipo Southern blot	10
2.5 Diseño experimental	11
III MATERIALES Y METODOS	12
3.1 Dilución óptima de la biblioteca de ADNc	12
3.2 Preparación de la sonda	12
3.2.1 Obtención de plásmidos	12
3.2.2 Purificación del inserto	13
3.2.3 Marcaje de sonda	13
3.3 Primera Ronda de Selección de Genes Específicos	14
3.3.1 Escrutinio de colonias en cajas de Petri.	14
3.3.2 Hibridación de ácidos nucleicos utilizando colonias bacterianas	14
3.4 Segunda Ronda de Selección de Genes Específicos.	15
3.4.1 Hibridación de ácidos nucleicos tipo Dot-blot	15
3.5 Tercera Ronda de Selección de Genes de específicos	16
3.5.1 Hibridación de ácidos nucleicos tipo Southern blot	16
3.6 Secuenciación y Análisis Bioinformático	17
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
4.1 Determinación de la dilución óptima de la biblioteca de ADNc.	18

4.2 Hibridación de ácidos nucleicos utilizando colonias bacterianas	18
4.3 Hibridación de ácidos nucleicos tipo Dot Blot	20
4.4 Hibridación de ácidos nucleicos tipo Southern blot	22
4.5 Análisis bioinformático	24
V. CONCLUSIONES	30
VI. BIBLIOGRAFÍA	31
VII. ANEXOS	33
7.1 Preparación de medio LB	33
7.2 Solución de desnaturalización (1L)	33
7.3 Solución de neutralización (1L)	33
7.4 Preparación de solución SSC 20X	33
7.5 Preparación de TE 1X (1L)	33
7.6 Solución de depuración (1L)	34
7.7 Preparación de TENS	34
7.8 Amortiguador de carga 6X (DYE)	34
7.9 Preparación de buffer primario (1 Lt)	34
7.10 Preparación de buffer secundario (1lit)	34
7.11 Preparación de TAE 50X (Tris-acetate) (1L)	35
7.12 Amortiguador de hibridación	35
7.13 Purificación del inserto mediante el Mini Elute gel Extraction Kit (Qiagen) .35	

RESUMEN

Los plátanos son plantas cuyo crecimiento requiere de temperaturas cálidas. Es bien conocido que al presentarse un descenso de temperatura, estos cultivos se ven afectados, observándose diferentes alteraciones o desordenes fisiológicos.

En el presente trabajo nos propusimos identificar y aislar genes que se expresan a estas bajas temperaturas a través del escrutinio de una biblioteca de *Musa balbisiana*.

A través de esta biblioteca de ADNc de *Musa balbisiana* y utilizando como sondas los insertos contenidos en el plásmido pGEM-T-Easy; los cuales para los fines de este trabajo se les denominó 32-9, M-68 y M-78, se hizo una identificación de colonias positivas las cuales mostraron señales quimioluminiscentes. Se recuperaron estas colonias para ser sometidas a una hibridación de ácidos nucleicos tipo Dot-blot y posteriormente Southern blot. El escrutinio permitió aislar y secuenciar 9 clones. Las posibles secuencias de los clones aislados no presentaron homología con algún gen en particular involucrado en mecanismos de estrés por frío.