

ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
2.1 Posición taxonómica del agave	5
2.2 Marcadores moleculares	5
2.3 Clasificación de los marcadores moleculares	6
2.4 Principales marcadores moleculares ventajas y desventajas	7
2.4.1 Los RFLP (Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción)	7
2.4.2 RAPD (Amplificación aleatoria de fragmentos polimórficos de ADN o Amplificación aleatoria del ADN polimórfico)	8
2.4.3 AFLP (Polimorfismo de la longitud de fragmentos amplificados)	9
2.4.4 Los microsatélites SSR (Secuencias simples repetidas)	11
2.4.4.1 Características de los microsatélites	11
2.4.4.2 Clasificación de los microsatélites	12
2.4.4.3 Limitación de los microsatélites	12
2.4.4.4 Aplicación de los microsatélites	13
2.4.4.5 Trabajos previos en agave utilizando microsatélites	15
2.4.5 Reacción en cadena de la polimerasa(PCR)	16
3. Justificación	20
4. Objetivos	21
4.1 Objetivo general	21
4.2 Objetivos específicos	21
5. Hipótesis	22
6. Materiales y métodos	23
6.1 Material Biológico	23
6.2 Construcción de la librería genómica	23
6.2.1 Extracción del ADN genómico de agaves	23
6.2.2 Cuantificación del ADN por espectofotometría	24
6.2.3 Digestión del ADN genómico	25
6.2.4 Ligación de los adaptadores al ADN genómico digerido y ligado	26
6.2.5 Amplificación por PCR del ADN digerido y ligado	27

6.2.6 Enriquecimiento de la biblioteca genómica.	28
6.2.7 Clonación de los fragmentos enriquecidos al plásmido y su transformación a la bacteria E. Coli.	30
6.2.8 Identificación de las clonas recombinantes.	32
6.2.9 Extracción del ADN plasmídico.	33
7. Resultados.	34
7.1 Extracción del ADN genómicos de agaves.	34
7.2 Digestión del ADN genómico.	35
7.3 Reacción de ligación.	36
7.4 Amplificación.	36
7.5 Enriquecimiento de la biblioteca genómica.	37
7.6 Clonación de los fragmentos enriquecidos al plásmido y su identificación.	39
7.7 Secuenciación de clonas y su análisis.	43
8. Conclusiones.	45
9. Bibliografía.	46