

## CONTENIDO

PRÓLOGO	III
ABREVIATURAS	V
<b>SECCIÓN 1</b>	1
AISLAMIENTO DE ÁCIDOS NUCLEICOS	3
Aislamiento de ADN genómico de plantas	5
Aislamiento de ADN genómico de hongos y levaduras	6
Aislamiento de ADN genómico de soya	7
Aislamiento de ARN total	8
CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE ÁCIDOS NUCLEICOS	10
Cuantificación de ácidos nucleicos por espectrofotometría	11
COMPROBACIÓN DE LA CALIDAD DEL MATERIAL GENÉTICO EXTRAÍDO	13
Geles para verificar la calidad del material genético extraído	16
<b>SECCIÓN 2</b>	19
PCR CONVENCIONAL	21
Protocolo para comprobar la calidad del ADN extraído mediante la amplificación del gen 16S	24
Detección por PCR del virus TYLCV	26
Detección por PCR del hongo patógeno <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	28
Detección por PCR de la bacteria <i>Xylella fastidiosa</i>	29
PCR ANIDADA	32
Detección de <i>Fitoplasmas</i> sp. por PCR anidada	33
TRANSCRIPCIÓN REVERSA - PCR (RT-PCR)	38

Detección de virus y viroides mediante RT-PCR en un solo paso	39
Síntesis de ADNc para RT-PCR en dos pasos	41
<b>SECCIÓN 3</b>	45
ESTUDIO DE SECUENCIAS NUCLEOTÍDICAS	47
PERFILES DE RESTRICCIÓN Y HUELLAS GENÉTICAS	53
Perfil de restricción de <i>Colletotrichum</i> sp. por PCR-RFLP	60
Perfil de restricción de <i>Fitoplasmas</i> sp. por PCR-RFLP	62
Huella genética para especies de levaduras con oligonucleótidos arbitrarios (AP-PCR)	64
<b>SECCIÓN 4</b>	67
DETECCIÓN DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS (OGMs)	69
Detección de maíz transgénico	71
Detección de soya transgénica	73
<b>SECCIÓN 5</b>	77
AYUDAS PARA EL LABORATORIO	79
Preparación de oligonucleótidos iniciadores	79
Conversión de RPM a RCF	80
Reglas básicas de trabajo en un laboratorio de biología molecular	82
Control de electroforesis	83
Cuadro de cálculo para la PCR	84
Preparación de soluciones para los protocolos de biología molecular	85
Soluciones de extracción de ADN (método rápido)	87
Secuencias de los oligonucleótidos utilizados en el presente Manual	88
<b>REFERENCIAS</b>	89