

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEORICO	4
2.1. El plátano y sus orígenes	4
2.2. Botánica del plátano	5
2.3. Importancia y usos del plátano	6
2.4. El cultivo de plátano en el mundo	7
2.4.1. El cultivo de plátano en México	8
2.5. Enfermedades que amenazan la producción de plátano	10
2.6. Taxonomía de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	11
2.7. Infección y sintomatología	12
2.8. Genes de resistencia a patógenos en plantas, estructura, función y usos	15
2.8.1. El gen <i>Pto</i>	18
3. JUSTIFICACIÓN	23
4. HIPÓTESIS	24
5. OBJETIVOS	25
5.1. Objetivo general	25
5.2. Objetivos específicos	25
6. MATERIALES Y MÉTODOS	26
6.1. Material biológico	26
6.2. Aislamiento de ácidos nucleicos	26
6.2.1. Aislamiento de ARN total	26
6.2.2. Aislamiento de ADN genómico	28
6.3. Síntesis de ADN complementario (ADNc)	29
6.4. Amplificación de un fragmento del gen de la Actina de plátano (control positivo)	32
6.5. Evaluación de la expresión de genes tipo <i>Pto</i> mediante RT-PCR	34

6.5.1. Mapeo de la región 3' terminal de los ADNc tipo Pto de plátano -----	35
6.5.2. Purificación de productos de PCR -----	37
6.5.3. Ligación de producto de PCR en el plásmido pGEM-T Easy -----	38
6.5.4. Transformación genética de la bacteria <i>Escherichia coli</i> cepa DH10B mediante el método de choque térmico -----	39
6.5.5. Detección de plásmidos recombinantes -----	40
6.5.6. Extracción de plásmidos recombinantes -----	41
6.5.7. Digestión de plásmidos recombinantes con la enzima de restricción <i>EcoRI</i> -----	43
6.5.8. Electroforesis en gel de agarosa -----	43
6.6. Secuenciación del inserto de interés -----	44
6.7. Análisis bioinformático -----	46
7. RESULTADOS -----	47
7.1. Aislamiento del ARN total de la hoja del cultivar de plátano cv. Tuu gia resistente a la Sigatoka negra -----	47
7.2. Aislamiento del ADN genómico de la hoja del cultivar de plátano resistente a la Sigatoka negra -----	48
7.3. Análisis de la calidad del ADNc mediante la amplificación por RT-PCR de un fragmento del gen de <i>Actina 1</i> de plátano -----	49
7.4. Evaluación de la expresión de genes tipo <i>Pto</i> mediante RT-PCR -----	50
7.5. Mapeo de los extremos 3' del ADNc -----	52
7.5.1. Purificación de los productos de 3' RACE y clonación en el plásmido pGEM-T Easy -----	52
7.5.2. Verificación de los plásmidos recombinante y obtención de la secuencia 3' de los ADNc tipo Pto -----	53
7.6. Análisis de las secuencias terminales 3' de los ADNc tipo Pto de plátano -----	55

