

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 EcoRI -----	43
6.5.8. Electroforesis en gel de agarosa -----	43
6.6. Secuenciación del inserto de interés -----	44
6.7. Análisis bioinformatico -----	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

7.7. Alineamiento de las secuencias tipo Pto en plátano con el programa Clustal X -----	63
8. DISCUSIÓN -----	66
9. CONCLUSIONES -----	71
10. PERSPECTIVAS -----	72
11. BIBLIOGRAFIA -----	73
12. ANEXO -----	81
13. ABREVIATURAS -----	83