

ÍNDICE

CAPÍTULO I	1
1. INTRODUCCIÓN..	1
1.1 La enfermedad de la Sigatoka negra.....	1
1.2 Sintomatología de la Sigatoka negra	4
1.3 Estrategias de control de la Sigatoka negra	5
CAPÍTULO II	7
2. FUNDAMENTO TEÓRICO	7
2.1 Importancia de la pared celular fúngica.....	7
2.2 Clasificación de las manoproteínas con base en los métodos con los cuales se extraen de la pared fúngica	10
2.3 PROTEÍNAS	11
2.3.1 Proteínas con un grupo glucosil fosfatidil inositol (Proteínas GPI)	11
2.3.2 Proteínas con repeticiones internas (PIR)	12
CAPÍTULO III	15
3. OBJETIVOS	15
3.1 Objetivo general	15
3.2 Objetivo particulares..	15

CAPÍTULO IV.	16
4. DISEÑO EXPERIMENTAL	16
CAPÍTULO V.	17
5. MATERIAL BIOLÓGICO.....	17
5.1 Cultivo <i>in vitro</i> de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	17
5.2 Extracción de proteínas de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	
5.2.1 Extracción de las proteínas asociadas covalentemente a la pared de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> mediante tratamiento alcalino	... 19
5.2.2 Extracción de las proteínas asociadas covalentemente a la pared de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> mediante tratamientos ácidos...	
5.3 Diálisis de las proteínas recuperadas a partir del tratamiento ácido o alcalino	
	20
5.4 CUANTIFICACIÓN DE PROTEINAS	20
5.4.1 Cuantificación proteínas mediante el método de Bradford..	20
5.4.2 Determinación de la concentración de proteína mediante el método de Peterson	
5.5 Electroforesis de proteínas en geles desnaturizantes de 15% de poliacrilamida	21
5.5.1 Tinción de proteínas con nitrato de plata.	22
5.5.2 Tinción de proteínas con azul de Coomassie R-250	

CAPÍTULO VI

6. ANALISIS EXPERIMENTAL

6.1 Análisis del tipo de glucosilación de las proteínas GPIs asociadas a la pared celular de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> mediante tratamiento con N-glucosidasa y O-glucosidasa	24
6.2 Análisis del perfil proteico asociado a la pared celular de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> mediante el tratamiento con Quitinasa y Laminarinasa	
6.3 Secuenciación de las proteínas asociadas a la pared celular de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .	26

CAPÍTULO VII

7. RESULTADOS

7.1 Purificación de la pared celular de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	
7.2 Liberación de la proteína asociada de manera covalente a la pared celular de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	29
7.3 Análisis del tipo de glucosilación presente en las proteínas GPIs liberadas con ácido fluorhídrico-piridina a partir de la pared celular de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	30
7.4 Determinación mediante tratamiento con Laminarinasa de las proteínas asociadas covalentemente a la pared de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	32
7.5 Determinación mediante tratamiento con Quitinasa de las proteínas asociadas covalentemente a la pared de <i>Mycosphaerella fijiensis</i>	33

7.6 Secuenciación de una de las proteínas GPI asociadas a la pared celular de <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .	35
CAPÍTULO VIII	37
8. Discusión y conclusiones.	37
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	41
REFERENCIAS CITADAS.	42