



	Página
INDICE GENERAL	ii
INDICE DE FIGURAS	v
INDICE DE TABLAS	vii
RESUMEN	viii
SUMMARY	ix
1. Introducción	1
1.1 Micorrizas	2
1.1.1 Simbiosis	2
1.1.2 Beneficios de la simbiosis	2
1.1.3 Clasificación de las micorrizas	5
1.1.4 Micorrizas Arbusculares (MA)	6
1.1.5 <i>Glomus intraradices</i>	9
1.2 Evolución de las micorrizas	9
1.3 Transporte de nutrientes	12
1.4 Identificación de genes inducidos durante la simbiosis	13
1.5 Importancia agrícola de la micorriza	14
2.1 Fosfato	15
2.1.1 Identificación de transportadores de fosfato inorgánico	17
2.1.2 Formas de fósforo en el suelo	17
2.1.3 Transferencia de fosfato del suelo a la planta a través del hongo micorrízico arbuscular	18
2.1.4 Importancia del fosfato en la planta	19
2.1.5 Manejo Biológico del fósforo en el suelo	
3.1 Acetosiringona (AS)	
3.1.1 Sistema de dos componentes	23
4.1 Macroarreglos	25
5.1 Justificación	29
5.2 Hipótesis	29
5.3 Objetivo General	29



5.4 Objetivos Específicos	30
6. Materiales y Métodos	31
Estrategia Experimental	32
6.1 Materiales	33
6.1.1 Medios de Cultivo	33
6.1.2 Medio mínimo M	33
6.1.3 Medio líquido B5	33
6.1.4 Soluciones empleadas para Marcaje Radioactivo de Sondas	33
6.2 Métodos	34
6.2.1 Material Biológico	34
6.2.2 Extracción de DNA plasmídico (Minipreparación)	34
6.2.3 Extracción de DNA genómico	35
6.2.4 Preparación de Acetosiringona (AS)	35
6.2.5 Diseño de oligos	36
6.2.6 Amplificación por PCR del fragmento de NPTII	36
6.3 Elaboración del Banco de CDNA de <i>Glomus intraradices</i>	37
6.3.1 Extracción de RNA de esporas de <i>Glomus intraradices</i>	38
6.3.2 Aislamiento de RNA Poli A <sup>+</sup>	38
6.3.3 Amplificación de cDNA mediante " Long Distance-PCR (LD-PCR )"	38
6.3.4 Digestion del cDNA con <i>Sfi I</i>	39
6.3.5 Fraccionamiento del cDNA	40
6.3.6 Purificación por columna de afinidad Qiagen	40
6.3.7 Ligación al vector $\lambda$ TriplEx2	41
6.3.8 Empacamiento en extractos Stratagene	42
6.3.9 Titulación del Banco sin amplificar	42
6.3.10 Determinación del porcentaje de recombinantes	43
6.3.11 Amplificación del Banco	43
6.3.12 Titulación del Banco Amplificado	44
6.3.13 Obtención del Banco de cDNA del hongo y Purificación del DNA del bacteriófago	44
6.3.14 Escisión del plásmido	45

6.3.15 Plásmido pTriplEx2	46
6.4 Elaboración de los macroarreglos	47
6.4.1 Impresión de macroarreglos	47
6.4.2 Preparación de cDNA de Sondas Contrastantes	49
6.4.3 Marcado de sondas	50
7. Resultados y Discusión	51
7.1 Crecimiento de las raíces transformadas de jitomate y del cultivo axénico de la asociación micorrízica	52
7.2 Extracción de DNA genómico de las raíces de jitomate transformadas y sin transformar	52
7.3 Amplificación por PCR del fragmento de NPTII	53
7.4 Desarrollo del sistema de crecimiento en caja petri con dos compartimentos	54
7.5 Construcción de un banco de cDNA de micelio micorrízico.	56
7.5.1 Extracción de RNA total de <i>Glomus intraradices</i>	56
7.5.2 Síntesis de cDNA	57
7.5.3 Purificación de las fracciones de cDNA para su clonación	59
7.5.4 Ligación del cDNA	59
7.6 Conversión de $\lambda$ TriplEx2 a pTriplEx2	61
7.7 Análisis de plásmidos recombinantes por restricción	62
7.8 Control positivo. Gen de Actina	65
7.9 Extracción de RNA total de condiciones de crecimiento contrastantes	66
7.10 Síntesis de cDNA de Sondas Contrastantes	67
7.11 Marcaje radiactivo de sondas	68
7.12 Macroarreglos	68
7.13 Segundo Escrutinio de las Clonas de Expresión Diferencial	94
7.14 Secuenciación y comparación en la base de datos, de los plásmidos recombinantes, de expresión diferencial y expresión constitutiva	
Conclusiones y Perspectivas	112
Bibliografía	115
Apéndice	