



**IBE**

Instituto de  
Biología  
Experimental

**Análisis de expresión diferencial de genes análogos de resistencia en el somaclon CIEN BTA-03 (banano resistente a la Sigatoka) y su parental el clon Williams (susceptible).**

Eva de García, Carlos Giménez, Gustavo Palacios y María del Carmen Vidal

**Laboratorio de Biotecnología Vegetal. IBE - UCV.**

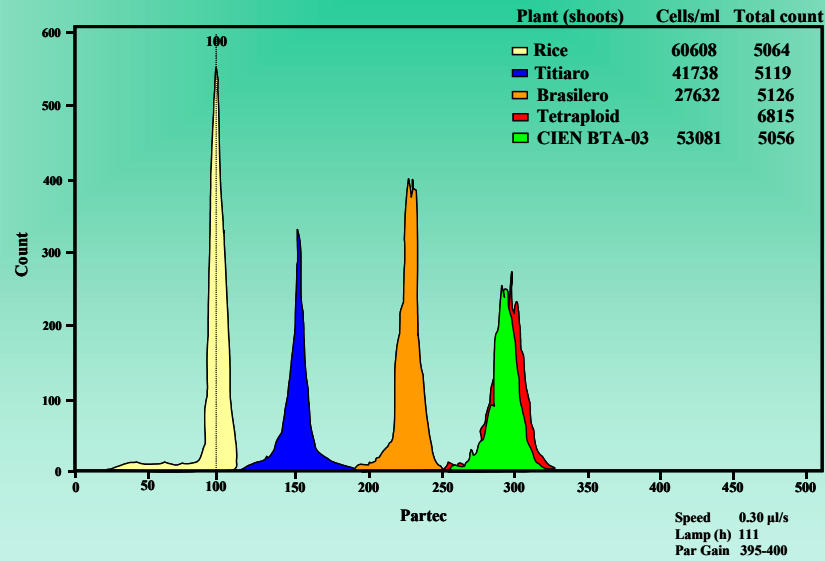
**Clon Williams.**



**Somaclon CIEN BTA-03**

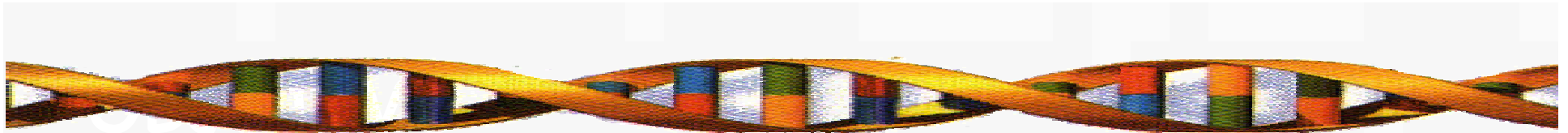


**Flow cytometry analysis of four banana clones.**



Courtesy of Nicolas Roux. Plant Breeding Unit, FAO/IAEA, Seibersdorf, Austria.





Utilización de la técnica **DDRT-PCR modificada** como una estrategia para encontrar en Banano, regiones análogas a genes que podrían estar asociados a la resistencia a los hongos causantes de las enfermedades Sigatoka negra y amarilla

# Materiales y Métodos

Material Vegetal  
(clones de banano)

Williams (susceptible)  
CIEN BTA 03 (resistente)  
Variante somaclonal obtenido a por  
cultivo *in vitro* a partir de Williams

Técnica: **DDRT-PCR** (despliegue diferencial  
de ARNm transcrito reversamente), modificada.

Cebadores específicos diseñados  
en base a regiones conservadas  
de genes de resistencia

NBD-F1 (Kanazin y col, 1996) LINO  
LM-637 (Yu y col, 1996) TOMATE  
LM-638

24 cebadores de 10 pb de secuencia al azar (OPERON)

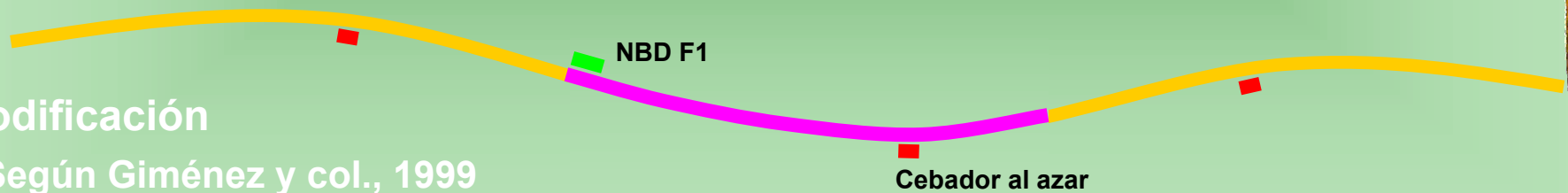


# ESTRATEGIA para la localización de genes análogos de resistencia



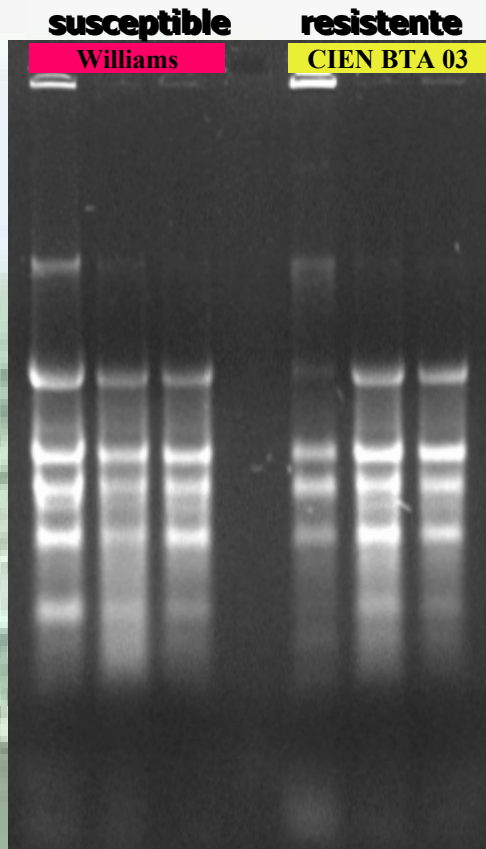
Modificación

Según Giménez y col., 1999



# DDRT-PCR modificada

## Clones de banano



ARN<sub>total</sub>

Kit de aislamiento con partículas magnéticas (Promega)

ARN<sub>m</sub>

Transcripción reversa (RT)

ADN<sub>c</sub>

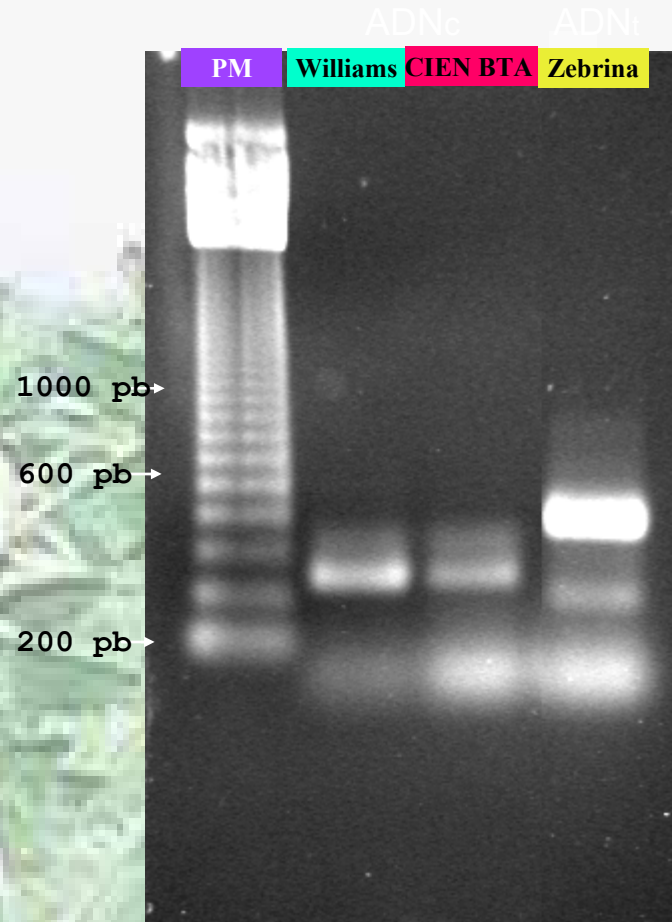
DDRT-PCR modificada



# DDRT-PCR modificada

## VERIFICACIÓN DE LA INTEGRIDAD DEL ADNc

PCR para amplificación específica del gen de la peroxidasa de *Musa* a partir de ADNc y ADNt



## Cebadores Degenerados

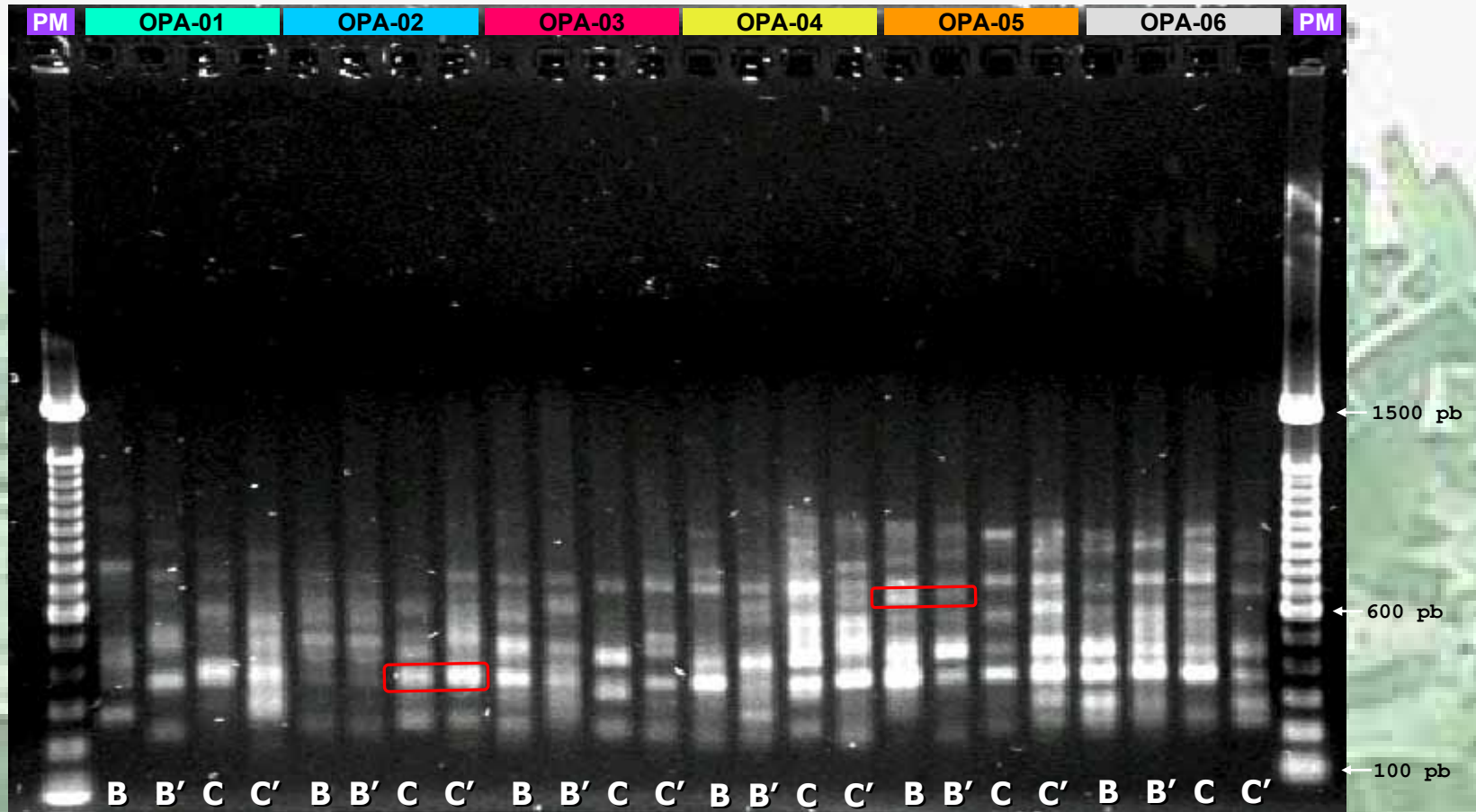
Cebador	Secuencia (bases)	% de degeneración.	Tamaño esperado	DNA amplificado
NBD-F1	GGA ATG GGI GGI GTI GGI AAR AC	22	340pb	<i>M. balbisiana</i>
NBD-R1	YCT AGT TGT RAY DAT DAY YYT RC	22		
LM638	GGI GGI GTI GGI AAI ACI AC	30	540pb	CIEN BTA-03
LM637	ARI GCT ARI GGI ARI CC	41		
PTO P2	TNG GNS ANG GNG KNT TYG G	42	550pb	<i>M. acuminata</i>
PTO P2R	ACN CCR AAN GAR TAN ACR TC	30		<i>subsp. Zebrina.</i> <i>M. balbisiana</i>
PTO 1A	ATG GGA AGC AAG TAT TCA AGG C		550pb	NO AMPLIFICO.
PTO 1B	TTG GCA CAA AAT TCT CAT CAA GC			





# DDRT-PCR modificada

## Amplificación con cebador NBD F1 + OPERON



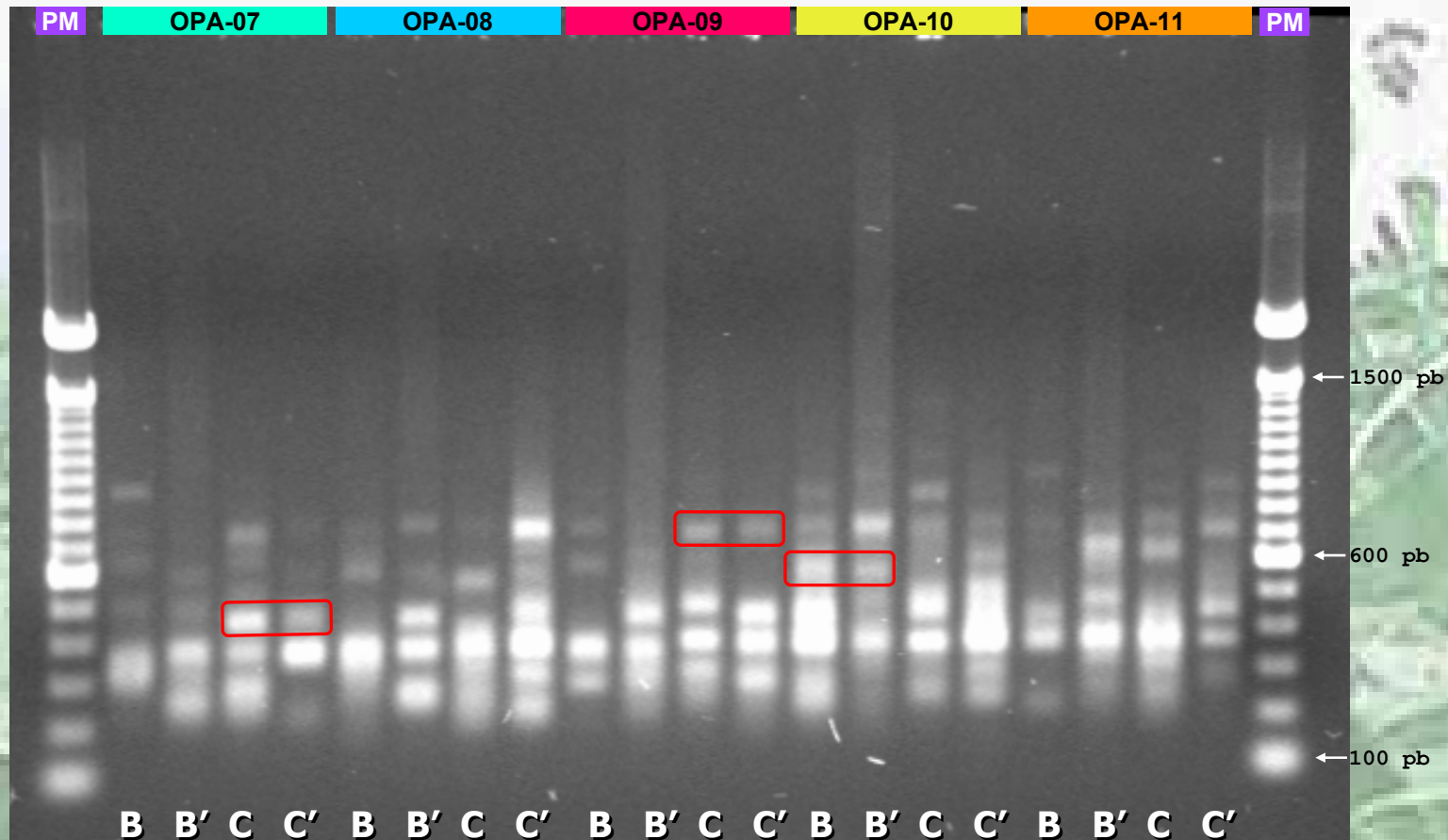
**B** Williams planta 1  
**B'** Williams planta 2

**C** CIEN BTA 03 planta 1  
**C'** CIEN BTA 03 planta 2



# DDRT-PCR modificada

## Amplificación con cebador NBD F1 + OPERON



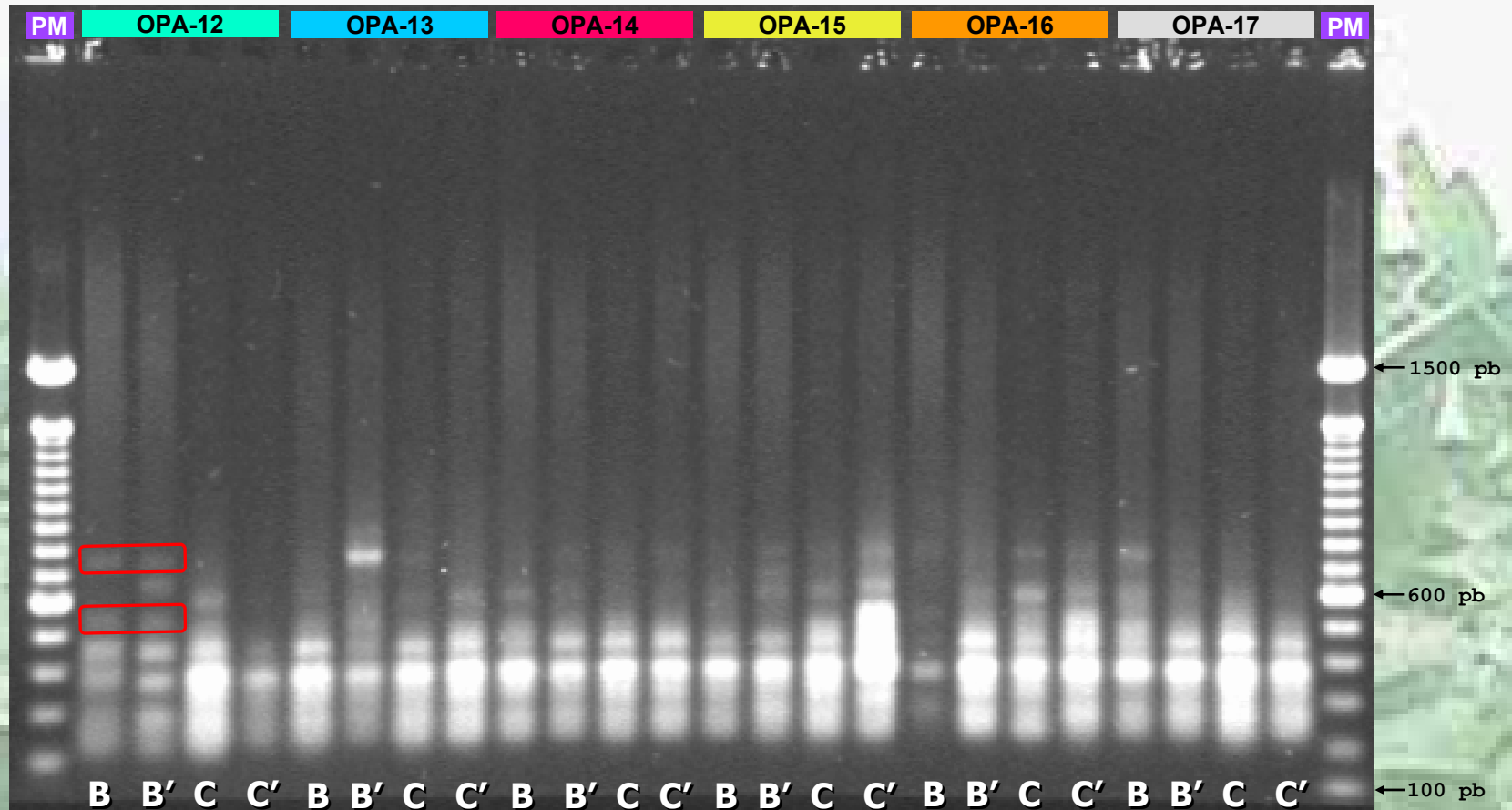
B Williams planta 1  
B' Williams planta 2

C CIEN BTA 03 planta 1  
C' CIEN BTA 03 planta 2



# DDRT-PCR modificada

## Amplificación con cebador NBD F1 + OPERON



**B** Williams planta 1      **C** CIEN BTA 03 planta 1  
**B'** Williams planta 2      **C'** CIEN BTA 03 planta 2

