

ÍNDICE

	Página
I.- RESUMEN.	4
II.- SUMMARY.	5
1.- INTRODUCCION.	6
1.1 Aspectos generales.	6
1.2 Control hormonal del desarrollo del fruto de tomate.	6
1.3 Características y componentes del fruto de tomate.	10
1.4 Control genético del desarrollo del fruto.	12
1.5 Etileno y ácido abscísico en el desarrollo del fruto.	15
1.6 ABA y azúcares en el desarrollo de frutos.	16
1.7 ABA en el desarrollo de semillas.	17
1.8 Señalización por la fitohormona ABA.	18
III.- HIPÓTESIS DE TRABAJO.	24
IV.- OBJETIVOS.	24
2.- MATERIALES Y MÉTODOS.	25
2.1 Material biológico.	25
2.2 Ensayo de germinación de semillas.	25
2.3 Extracción de RNA de semillas de tomate.	26
2.4 Extracción de RNA de pericarpio de tomate.	26
2.5 Purificación y síntesis reversa de cDNA de cadena simple.	27
2.6 Análisis de expresión de los genes de interés por qRT-PCR.	27
2.7 Determinación de hormonas.	32
2.8 Determinación del contenido de etileno en frutos.	33
2.9 Determinación de azúcares y ácidos orgánicos mediante electroforesis capilar.	33
2.10 Análisis estadístico de los datos.	34
2.11 Perfiles metabólicos para frutos de tomate mediante cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas (GC-MS).	34
2.11.1 Extracción de metabolitos.	34

2.11.2 Derivatización de los metabolitos.	35
2.11.3 Análisis por cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masas.	35
2.11.4 Análisis de datos e identificación de metabolitos.	36
2.11.5 Cuantificación de proteínas totales.	36
2.12 Perfil de metabolitos por HPLC-ESI-QqTOF.	37
2.12.1 Preparación de las muestras.	37
2.12.2 Análisis por cromatógrafo líquido acoplado a espectrómetro de masas (HPLC-ESI-QqTOF).	37
2.12.3 Análisis de la reproducibilidad.	38
2.12.4 Linealidad.	39
2.12.5 Análisis estadístico del perfilado metabolómico.	39
2.13 Análisis de microarreglos.	40
2.13.1 Aislamiento de mRNA.	40
2.13.2 Síntesis de cDNA.	40
2.13.3 Marcaje del cDNA doble hebra y pre-hibridización.	41
2.13.4 Hibridización, lavado y escaneo de los arreglos.	42
2.13.5 Análisis de las imágenes y datos.	42
3.- RESULTADOS.	44
3.1 Expresión de <i>SIAREB1</i> y <i>SIAREB2</i> en diferentes tejidos de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).	44
3.2 Expresión de <i>SIAREB1</i> y <i>SIAREB2</i> durante diferentes etapas de desarrollo del fruto de tomate.	44
3.3 Frutos de tomate transgénicos presentan diferentes niveles de expresión de <i>SIAREB1</i> .	47
3.4 Análisis comparativo del aspecto fenotípico de las líneas antisentido y sentido de <i>SIAREB1</i> con las plantas silvestres de tomate cv. Moneymaker.	49
3.5 La expresión de <i>SIAREB1</i> afecta la sensibilidad de las semillas transgénicas a ABA.	49
3.6 Contenido de etileno, ABA y ácido jasmónico durante el desarrollo de frutos de tomate silvestres y transgénicos.	52

3.7 Contenido de ácido indolacético, ácido salicílico, ácido jasmónico y ácido abscísico en semillas durante el desarrollo de frutos de tomate silvestres y transgénicos.	52
3.8 El contenido de ácidos orgánicos y azúcares es alterado en frutos transgénicos.	56
3.9 Cambios en la composición de metabolitos en frutos de tomate producto de la sobre-expresión y reducción de la expresión de <i>SIAREB1</i> .	58
3.10 Cambios en la composición de metabolitos secundarios en frutos de tomate producto de la sobre-expresión y reducción de la expresión de <i>SIAREB1</i> .	70
3.11 Análisis global de genes afectados por la sobre-expresión de <i>SIAREB1</i> mediante análisis de microarreglos.	77
3.12 Escrutinio de genes con una posible regulación diferencial por <i>SIAREB1</i> mediante qRT-PCR.	84
4.- DISCUSIÓN.	98
4.1 Regulación del metabolismo.	99
4.2 Regulación de la expresión génica.	104
5.- CONCLUSIONES.	113
6.-BIBLIOGRAFÍA.	114
7.- ANEXO 1	130