

INDICE

INDICE DE TABLAS.....	III
INDICE DE FIGURAS.....	III
RESUMEN.....	V
ABSTRACT.....	VI
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 ROL CELULAR DE BORO COMO MICRONUTRIENTE EN PLANTAS	2
1.2 MECANISMOS MOLECULARES DE TRANSPORTE DE BORO EN PLANTAS.....	4
1.3 REGULACIÓN DEL MECANISMO DE TRANSPORTE Y DISTRIBUCIÓN DE BORO.....	8
1.4 DESARROLLO REPRODUCTIVO EN <i>VITIS VINIFERA</i> L. Y SU RELACIÓN CON LA NUTRICIÓN DE BORO.....	9
1.5 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	13
1.5.1 Hipótesis.....	13
1.5.2 Objetivo General.....	13
1.5.3 Objetivos específicos.....	13
2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
2.1 MATERIALES.....	15
2.1.1 Material Vegetal.....	15
2.1.2 Levaduras.....	16
2.1.3 Oligonucleótidos.....	16
2.1.4 Vectores génicos.....	18
2.2 MÉTODOS.....	19
2.2.1 Clonamiento y caracterización de secuencias homólogas a <i>AtBOR1</i> y <i>AtNIP5;1</i> en <i>Vitis vinifera</i> L. Cv. Carménère.....	19
2.2.2 Análisis funcional de <i>VvBOR1</i>	21
2.2.3 Análisis de expresión.....	25
2.2.4 Determinación de B en tejidos.....	26
3 RESULTADOS.....	28
3.1 CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE SECUENCIA DE <i>VITIS VINIFERA</i> L. CV. CARMÉNÈRE HOMÓLOGA A <i>ATBOR1</i>	29
3.2 ANÁLISIS FUNCIONAL DE PROTEÍNA <i>VvBOR1</i>	33
3.2.1 <i>VvBOR1</i> localiza en membrana plasmática en células vegetales.....	33
3.2.2 <i>VvBOR1</i> restituye el fenotipo de planta de <i>Arabidopsis thaliana</i> mutantes <i>bor</i> , en condiciones deficitarias de B.....	38
3.2.3 <i>VvBOR1</i> actúa como un transportador de eflujo de boro.....	40
3.3 CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE SECUENCIA DE <i>VITIS VINIFERA</i> L. CV. CARMÉNÈRE HOMÓLOGA A <i>ATNIP5;1</i>	44
3.4 EXPRESIÓN DE LOS TRANSPORTADORES <i>VvBOR1</i> Y <i>VvNIP5;1</i> DURANTE EL DESARROLLO REPRODUCTIVO DE <i>V. VINIFERA</i> L.	49
3.4.1 <i>VvBOR1</i> , se expresa diferencialmente durante el desarrollo reproductivo de dos cultivares de <i>Vitis vinifera</i> L.....	49
3.4.2 Existe una correlación entre la acumulación de transcritos de <i>VvBOR1</i> y el fenotipo partenocárpico o normal de las bayas en el cultivar <i>carménère</i>	52

3.4.3	<i>VvNIP5;1</i> presenta un patrón de expresión diferencial entre los cultivares de vid Carménère y Cabernet Sauvignon.....	54
3.4.4	La acumulación de transcritos del gen <i>VvNIP5;1</i> durante la baya del cultivar Carménère se correlaciona con el fenotipo partenocárpico o normal de las bayas.....	56
3.5	LA EXPRESIÓN DEL GEN <i>VvBOR1</i> EN UN ESTADO DETERMINADO DEL DESARROLLO DE BAYAS NORMALES O PARTENOCÁRPICAS, SE CORRELACIONA CON LA CONCENTRACIÓN DE B EN EL SIGUIENTE ESTADO DE DESARROLLO DE LA BAYA DEL CV. CARMÉNÈRE	58
4	DISCUSIÓN.....	62
4.1	EL GEN <i>VvBOR1</i> ES ORTÓLOGO DEL GEN <i>AtBOR1</i> DE <i>A. THALIANA</i> Y CODIFICARÍA PARA UN TRANSPORTADOR RELACIONADO CON LA RESPUESTA A DEFICIENCIA DE BORO.....	63
4.2	LA PROTEÍNA <i>VvBOR1</i> CODIFICA PARA UN TRANSPORTADOR DE EFLUJO DE BORO LOCALIZADO EN LA MEMBRANA PLASMÁTICA CAPAZ DE TRANSLOCAR ESTE ELEMENTO HACIA TEJIDOS AÉREOS DE LA PLANTA.	64
4.3	EL GEN <i>VvNIP5;1</i> ES HOMÓLOGO AL GEN <i>AtNIP5;1</i> DE <i>A. THALIANA</i> Y CODIFICARÍA PARA UNA PROTEÍNA DE LA FAMILIA MIP CON CAPACIDAD PARA TRANSPORTAR BORO.	67
4.4	LA EXPRESIÓN DE LOS GENES <i>VvBOR1</i> Y <i>VvNIP5;1</i> ES DEPENDIENTE DEL FENOTIPO Y DEL ESTADO DE DESARROLLO FLORAL/FRUTAL.....	68
4.5	EXISTE UNA REGULACIÓN TRANSCRIPCIONAL DE LA EXPRESIÓN DE <i>VvBOR1</i> Y <i>VvNIP5.1</i> EN TEJIDOS REPRODUCTIVOS.....	70
4.6	LA ACUMULACIÓN DE BORO EN TEJIDOS REPRODUCTIVOS DEL CULTIVAR CARMÉNÈRE SE CORRELACIONA CON LA EXPRESIÓN DE <i>VvBOR1</i>	71
5	CONCLUSIONES	74
6	BIBLIOGRAFÍA	76
7	ANEXOS	85

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estados de desarrollo reproductivo de vid analizados durante este trabajo.....	14
Tabla 2. Lista de oligonucleótidos.....	16
Tabla 3. Vectores genéticos utilizados durante esta investigación.....	17

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Análisis de secuencia clonada del gen <i>VvBOR1</i>	28
Figura 2. Árbol filogenético de proteínas de la familia BOR de especies vegetales.....	30
Figura 3. Comparación de perfiles de hidrofobicidad de <i>VvBOR1</i> y <i>AtBOR1</i>	30
Figura 4. Localización subcelular de <i>VvBOR1</i>	32
Figura 5. Respuesta de <i>VvBOR1</i> a altas concentraciones de B.....	35
Figura 6. <i>VvBOR1</i> , restituye el fenotipo silvestre de plantas mutantes <i>bor1-3</i> crecidas en medio deficiente de B.....	37
Figura 7. Ensayo de tolerancia a ácido bórico de cepas mutantes de levadura expresando las proteína <i>VvBOR1</i>	39
Figura 8. Concentración de B intracelular de mutantes <i>bor1Δ</i> transformadas expuestas a B.....	41
Figura 9. Arquitectura génica de <i>VvNIP5;1</i>	44
Figura 10. Análisis de secuencia proteína codificada por gen <i>VvNIP5;1</i>	44
Figura 11. Comparación de perfiles de hidrofobicidad de proteína codificada por <i>VvNIP5;1</i> y <i>AtNIP5;1</i>	45
Figura 12. Perfiles de expresión del gen <i>VvBOR1</i> durante el desarrollo reproductivo de dos cultivares de vid.....	48
Figura 13. Expresión de <i>VvBOR1</i> durante el desarrollo de bayas normales y partenocárpicas del cultivar Carménère (A).....	50

Figura 14. Perfiles de expresión del gen <i>VvNIP5;1</i> durante el desarrollo reproductivo de dos cultivares de vid.....	52
Figura 15. Expresión de <i>VvNIP5;1</i> durante el desarrollo de bayas normales y partenocárpicas del cultivar Carménère (A).....	54
Figura 16. Contenido de B en bayas semilladas o partenocárpicas.....	56
Figura 17. Correlación entre expresión del Gen <i>VvBOR1</i> en un estado de desarrollo de la baya y la concentración de B en el estado de desarrollo siguiente.....	58