

Índice general

Índice	I
Índice de figuras	VII
Índice de tablas	XI
Resúmenes	XIII

Índice

1. Introducción	1
1.1. El desarrollo del fruto en tomate.....	1
1.2. Desarrollo de los órganos florales.....	4
1.3. Desarrollo del óvulo y del carpelo.....	6
1.4. Cuajado y desarrollo del fruto.....	8
1.4.1. La biosíntesis de las giberelinas durante el cuajado de fruto en tomate.....	10
1.4.2. Las giberelinas en los mutantes partenocárpicos de tomate.....	11
1.4.3. Los componentes de la ruta de señalización de auxinas y giberelina.....	12
1.4.4. Implicación de genes MADS-box en el cuajado de fruto de tomate.....	16
1.4.5. Integración de los diferentes componentes implicados en el cuajado del fruto de tomate.....	18
1.5. Genética y control de la maduración del fruto.....	20
1.5.1. Regulación de la síntesis de etileno durante el desarrollo del fruto.....	20
1.5.2. La ruta de señalización de etileno en tomate.....	22

1.5.2.1. Receptores de etileno.....	22
1.5.2.2. La familia CTR.....	23
1.5.2.3. Los factores de transcripción inducibles por etileno.....	24
1.5.3. Los sistemas 1 y 2 que conducen a la transición de la maduración.....	25
1.5.4. Control transcripcional de la maduración del fruto.....	25
1.5.5. Color, sabor y nutrición de los frutos maduros de tomate.....	30
1.5.6. El reblandecimiento en el proceso de la maduración.....	33
1.5.7. La cutícula, otro de los componentes del reblandecimiento del fruto.....	34
1.6. La identificación de genes a partir de mutantes.....	35
2. Objetivos.....	37
3. Materiales y Métodos.....	41
3.1. Material vegetal.....	41
3.2. Caracterización genética de la mutación <i>Arlequín</i>	41
3.3. Evaluación de la resistencia a la kanamicina en plántulas de tomate...	42
3.4. Polinización cruzada.....	43
3.5. Caracterización de la mutación <i>Arlequín</i>	43
3.5.1. Análisis de la longitud de los sépalos en flores.....	43
3.5.2. Análisis de microscopía electrónica de barrido.....	43
3.5.3. Peso fresco y seco de los sépalos.....	44
3.5.4. Análisis histológicos en sépalos y pericarpo.....	44
3.5.5. Análisis de la producción de etileno.....	44
3.5.6. Análisis de pigmentos.....	45
3.5.7. Análisis de carbohidratos.....	46
3.5.8. Contenido en sólidos solubles.....	46
3.5.9. Análisis de expresión de genes candidatos.....	46
3.5.10. Análisis de la morfología del fruto.....	47
3.6. Evaluación del desarrollo vegetativo y de la producción del mutante <i>Arlequín</i>	48
3.7. Cultivo <i>in vitro</i> de flores.....	48
3.8. Caracterización de la mutación <i>Arlequín</i> en los cultivares p73 y Moneymaker de tomate.....	49

3.9. Caracterización molecular y clonación del gen <i>Arlequín</i>	49
3.10. Prueba histoquímica del gen <i>UidA</i> (ensayo GUS).....	49
3.11 Generación de plantas transgénicas de sobreexpresión y silenciamiento génico del gen <i>ARLEQUÍN</i>	50
3.11.1. Cultivo de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	50
3.11.2. Material vegetal.....	51
3.11.3. Esterilización de semillas.....	51
3.11.4. Obtención de plántulas axénicas.....	51
3.11.5. Extracción de explantes de cotiledón para los experimentos de transformación genética.....	51
3.11.6. Preparación del cultivo bacteriano para la transformación genética.....	52
3.11.7. Inoculación de explantes, selección de estructuras resistentes al agente selectivo y regeneración de plantas transgénicas.....	52
3.11.8. Enraizamiento de los brotes transgénicos.....	53
3.11.9. Determinación del nivel de ploidía en las plantas regeneradas mediante citometría de flujo.....	54
3.11.10. Aclimatación y trasplante.....	55
3.12. Caracterización de las plantas de sobreexpresión y anulación de expresión de <i>ARLEQUÍN</i>	55
3.12.1. Caracterización fenotípica en invernadero.....	55
3.12.2. Análisis de la expresión relativa de <i>ARLEQUÍN</i> y genes candidatos en plantas 35S y RNAi.....	56
3.12.3. Análisis de microscopía electrónica de barrido.....	57
3.12.4. Análisis de la producción de etileno.....	57
3.12.5. Análisis de pigmentos.....	57
3.12.6. Análisis de carbohidratos.....	57
3.12.7. Contenido en sólidos solubles.....	57
3.12.8. Análisis de las propiedades estructurales de los frutos.....	58
3.13 Generación de plantas transgénicas de sobreexpresión del gen <i>ARLEQUÍN</i> en los mutantes <i>rin</i> y <i>nor</i>	58
3.14 Evaluación de la tasa de cuajado.....	59
4. Resultados	61
4.1. Antecedentes de la mutación <i>Arlequín</i>	61

4.2. Caracterización genética de la mutación <i>Arlequín</i> y análisis de co-segregación T-DNA-fenotipo mutante.....	62
4.3. Caracterización fenotípica de la mutación <i>Arlequín</i>	66
4.3.1. Desarrollo floral en el mutante <i>Arlequín</i>	66
4.3.2. Desarrollo y maduración de sépalos y frutos en el mutante <i>Arlequín</i>	70
4.3.2.1. Los análisis fenotípicos indican que el sépalo <i>Arlequín</i> se comporta como un fruto.....	70
4.3.2.2. Los análisis histológicos, fisiológicos y moleculares confirman que el sépalo <i>Arlequín</i> se comporta como un fruto.....	71
4.3.2.3. <i>Arlequín</i> altera distintos caracteres relacionados con el desarrollo y maduración del fruto.....	76
4.4. Caracterización del desarrollo vegetativo y análisis de la producción en el mutante <i>Arlequín</i>	81
4.5. Cultivo in vitro de las flores del mutante <i>Arlequín</i>	86
4.6. Expresión de <i>Arlequín</i> en otras variedades de tomate.....	87
4.7. Caracterización molecular y clonación del gen <i>ARLEQUIN</i>	88
4.8. Análisis funcional del gen <i>ALQ</i>	93
4.8.1. Sobreexpresión de <i>ALQ</i> en plantas transgénicas de tomate.....	93
4.8.2. Silenciamiento de <i>ALQ</i> en plantas transgénicas de tomate.....	98
4.8.3. Caracterización fisiológica de sépalos y frutos en plantas con sobreexpresión o silenciamiento del gen <i>ALQ</i>	103
4.8.4. Análisis de la expresión de genes relacionados con el desarrollo y la maduración del fruto de tomate.....	106
4.8.5. Sobreexpresión de <i>ALQ</i> en mutantes alterados en el proceso de maduración.....	108
9. Evaluación de la tasa de cuajado de fruto.....	111
4.9.1. Evaluación de la tasa de cuajado en plantas de tomate con mayor nivel de expresión de <i>ALQ</i>	111
4.9.2. Evaluación de la tasa de cuajado en plantas de tomate con el gen <i>ALQ</i> silenciado.....	120
4.9.3. Evaluación de la tasa de cuajado en plantas de tomate con los genes <i>ALQ</i> y <i>TAG1</i> silenciados.....	123
5. Discusión	135
La mutación <i>Arlequín</i> promueve cambios en la identidad celular que	135

conducen a la conversión de sépalos en fruto.....	
El nivel de expresión de <i>TAG1</i> no se encuentra alterado en el mutante <i>Arlequín</i>	137
La mutación <i>Arlequín</i> altera la funcionalidad de la zona de abscisión del fruto y el estilo.....	137
Los sépalos <i>Arlequín</i> experimentan un proceso de maduración similar al del fruto.....	139
El fenotipo <i>Arlequín</i> se expresa <i>in vitro</i> con independencia de la temperatura de incubación y no está influenciado por el fondo genético en el que se detectó la mutación.....	140
El aislamiento y caracterización del gen etiquetado por el T-DNA indica que la mutación <i>Arlequín</i> se debe a la expresión ectópica de un factor de transcripción tipo MADS-box.....	141
<i>ALQ</i> (<i>TAGL1</i>) participa en el control genético del desarrollo reproductivo del fruto de tomate.....	142
<i>ALQ</i> desempeña un papel esencial como regulador positivo de la maduración del fruto.....	144
El control de la maduración mediado por <i>ALQ</i> comprende propiedades celulares y estructurales del pericarpo del fruto.....	146
Funciones conservadas en el desarrollo de frutos carnosos y secos.....	148
<i>ALQ</i> aumenta el cuajado de fruto dependiente e independiente de polinización.....	149
El mutante <i>Arlequín</i> puede emplearse como modelo para el estudio de procesos relacionados con el desarrollo del fruto.....	156
6. Conclusiones	159
7. Bibliografía	163

