

Índice

I. Introducción general	1
1.1. Los frutos	3
1.1.1. Definición de fruto.....	3
1.1.2. La maduración de los frutos.....	3
1.2. Los frutos cítricos.....	5
1.2.1. Morfología	5
1.2.2. Maduración	6
1.3. Metabolismo de los ácidos.....	7
1.3.1. Respiración.....	7
1.3.2. Degradación del almidón y la sacarosa, y la glicólisis	7
1.3.3. Síntesis de ácido cítrico	10
1.3.4. Derivación del gamma aminobutarato (GABA).....	13
1.4. Calidad interna de los frutos cítricos	15
1.5. Producción mundial de cítricos. Relevancia de España	15
II. Objetivos	17
III. Análisis global de la expresión génica durante el desarrollo y la maduración interna de los frutos de Clementina de Nules (<i>Citrus Clementina</i>).....	21
3.1. Introducción	23
3.2. Materiales y métodos	25
3.2.1. Material vegetal.....	25
3.2.2. Cuantificación del contenido en agua y de los metabolitos seleccionados	26
3.2.2.1. Contenido en agua.....	26
3.2.2.2. Carbohidratos solubles	26
3.2.2.3. Clorofilas y carotenoides.....	26
3.2.2.4. Ácido ascórbico.....	27
3.2.3. Hibridación de micromatrices de cDNA	28
3.2.3.1. Marcaje de las muestras	28
3.2.3.2. Hibridación y lavado	29
3.2.3.3. Adquisición y análisis de datos.....	30
3.3. Resultados y discusión.....	31

3.3.1. Identificación y clasificación funcional de genes involucrados en el desarrollo y la maduración de la pulpa de los frutos cítricos.....	31
3.3.2. Factores de transcripción y otras proteínas reguladoras	35
3.3.3. Regulación metabólica	38
3.3.3.1. Descripción general.....	38
3.3.3.2. Expansión celular en la fase II.....	40
3.3.3.3. Acumulación de agua: genes de acuaporinas	41
3.3.3.4. Metabolismo de los carbohidratos	43
3.3.3.5. Metabolismo secundario. Sustitución de pigmentos.....	45
3.3.3.6. Reducción de los niveles de vitamina C	47
3.3.3.7. Reducción de lípidos	48
IV. Degradación del ácido cítrico durante la maduración	51
4.1. Introducción	53
4.2. Materiales y métodos	54
4.2.1. Material vegetal.....	54
4.2.2. Cuantificación de los sólidos solubles totales	55
4.2.3. Análisis de ácidos.....	55
4.2.3.1. Determinación de la acidez total.....	55
4.2.3.2. Cuantificación del ácido cítrico mediante cromatografía iónica de adsorción.....	55
4.2.4. Cuantificación de gamma aminobutarato (GABA) y glutamato mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.....	55
4.2.5. Análisis Northern blot.....	56
4.2.6. Cuantificación de RNAs mensajeros por RT-PCR en tiempo real	56
4.2.7. Análisis de la expresión génica global mediante la hibridación de micromatrices de cDNA de cítricos (7K).....	58
4.2.8. Identificación de los genes de aconitasa de cítricos.....	58
4.3. Resultados y discusión.....	59
4.3.1. Expresión de genes asociados al metabolismo del ácido cítrico	59
4.3.2. Expresión y caracterización de los genes de la aconitasa	67
4.3.2.1. Determinación de ácidos en las variedades Clementina de Nules y Fortune	68

4.3.2.2. Inducción de la expresión de la aconitasa durante el desarrollo y la maduración del fruto.....	70
4.3.2.3. Identificación de la familia génica de la aconitasa de cítricos.....	71
4.3.2.4. Perfiles de expresión de los genes Aco-1, Aco-2 y Aco-3 en Clementina de Nules y Fortune	76
V. Acumulación del ácido cítrico durante el desarrollo del fruto.....	79
5.1. Introducción	81
5.2. Materiales y métodos	82
5.2.1. Material vegetal.....	82
5.2.2. Tratamientos con ácido arsánico.....	83
5.2.3. Cuantificación de ácidos y sólidos solubles totales.....	83
5.2.4. Análisis de los ácidos cítrico, málico e isocítrico mediante cromatografía iónica de adsorción	83
5.2.5. Obtención de un clon de cDNA de la enzima citrato sintasa de clementina.....	84
5.2.6. Hibridación de micromatrices de cDNA de cítricos (7K).....	84
5.2.7. Cuantificación de RNAs mensajeros por RT-PCR en tiempo real	85
5.3. Resultados y discusión.....	85
5.3.1. Efecto del tratamiento con ácido arsánico sobre la concentración de ácidos.....	85
5.3.2. Expresión de los genes de las principales enzimas implicadas en el metabolismo de los ácidos	88
5.3.3. Cambios de expresión génica inducida por ácido arsánico	95
5.3.4. Comparación de la expresión génica en el endocarpio de las variedades Fortune y Clementina de Nules.....	100
VI. Discusión general	105
VII. Conclusiones	117
VIII. Bibliografía	121
IX. Anexos y tablas suplementarias.....	CD