

ÍNDICE

ÍNDICES.....	I
Índice General.....	I
Índice de Figuras.....	V
Índice de Tablas.....	XI
RESÚMENES.....	XIII
Resumen (Castellano)	XIII
Summary (English)	XV
Resum (Valencià)	XVII
INTRODUCCIÓN.....	1
1. El tomate y la mejora.....	3
2. El desarrollo floral en tomate.....	7
2.1. Morfología de la flor de tomate.....	7
2.2. Etapas del desarrollo floral.....	8
2.3. El modelo ABC (DE) en tomate.....	10
2.4. Desarrollo de las anteras y del polen.....	12
2.5. Desarrollo de los óvulos y del ovario.....	18
3. El desarrollo de fruto en tomate.....	21
3.1. Morfología del fruto de tomate.....	21
3.2. Etapas del desarrollo del fruto.....	22
3.3. Control hormonal del desarrollo del fruto.....	26
4. Cuajado de fruto y partenocarpia.....	28
4.1. Implicación de las auxinas en el cuajado.....	30
4.2. Implicación de las giberelinas en el cuajado.....	34
4.3. Implicación de las citoquininas en el cuajado.....	37
4.4. Implicación del etileno en el cuajado.....	38
4.5. Implicación del ácido abscísico en el cuajado.....	39
4.6. Mutantes partenocárpicos y genes homeóticos florales.....	41
4.7. Integración de los diferentes componentes implicados en el cuajado de fruto...	44
5. Mutagénesis insercional.....	47

ÍNDICE

5.1. Genómica funcional y genética del desarrollo.....	47
5.2. Los mutantes como herramienta de genómica funcional.....	48
5.3. Mutagénesis insercional con T-DNA.....	49
5.4. Naturaleza de las mutaciones en las planas transgénicas.....	52
5.5. Vectores modificados. Etiquetado mediante trampas génicas (<i>trapping</i>).....	54
OBJETIVOS.....	59
MATERIAL Y MÉTODOS.....	61
1. Material vegetal.....	63
2. Técnicas básicas de cultivo <i>in vitro</i>	63
2.1. Esterilización de semillas.....	63
2.2. Germinación y obtención de plántulas axénicas.....	63
2.3. Cultivo de explantes primarios.....	64
2.4. Regeneración de plantas a partir de explantes primarios.....	64
2.4.1. Inducción de organogénesis.....	64
2.4.2. Enraizamiento de los brotes y clonación de las plantas.....	65
2.5. Determinación del nivel de ploidía de las plantas regeneradas mediante citometría de flujo.....	65
2.6. Re-introducción de brotes a condiciones de cultivo <i>in vitro</i>	66
3. Transformación genética.....	67
3.1. <i>Agrobacterium tumefaciens</i> : cepa bacteriana, plásmido y genes incluidos en el T-DNA.....	67
3.2. Cultivo de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	67
3.3. Método de transformación: selección y regeneración de plantas transgénicas..	68
3.4. Enraizamiento de los brotes transgénicos.....	69
3.5. Aclimatación y trasplante.....	69
3.6. Polinización cruzada.....	70
4. Caracterización del desarrollo reproductivo.....	71
4.1. Caracterización de flores.....	71
4.1.1. Estadios del desarrollo floral evaluados.....	71
4.1.2. Análisis de la viabilidad de los granos de polen.....	71
4.1.3. Preparación de muestras para microscopía óptica.....	73

4.2. Caracterización de frutos.....	74
4.2.1. Estadios del desarrollo del fruto evaluados.....	74
4.2.2. Evaluación de las características del fruto.....	75
5. Análisis de co-segregación: resistencia a la kanamicina en brotes reintroducidos a condiciones <i>in vitro</i>	76
6. Análisis de expresión del gen delator <i>Uida</i>	77
RESULTADOS.....	79
1. Caracterización fenotípica del cultivar de tomate “Moneymaker”.....	81
1.1. Caracterización fenotípica del desarrollo vegetativo.....	81
1.2. Caracterización fenotípica del desarrollo reproductivo.....	83
1.3. Respuesta al ensayo histoquímico GUS.....	86
2. Generación de una colección de líneas T-DNA de tomate (cv. Moneymaker) e identificación de mutantes dominantes con alteraciones en caracteres del desarrollo.....	90
2.1. Generación de una colección de líneas T-DNA de tomate.....	90
2.2. Detección de mutantes con efectos dominantes.....	93
2.2.1. Descripción de algunos mutantes con alteraciones en el desarrollo vegetativo.....	94
2.2.2. Descripción de algunos mutantes alterados en el desarrollo de la inflorescencia, la flor o las zonas de abscisión.....	102
2.2.3. Descripción de algunos mutantes alterados en el desarrollo de fruto.....	112
3. Caracterización de mutantes de fruto partenocárpico.....	120
3.1. <i>Tom1648</i> (<i>PAB = Premature Abscission in Breaker</i>)	123
3.1.1. Descripción de fenotipo mutante.....	123
3.1.2. Análisis de las alteraciones en el desarrollo reproductivo.....	128
3.1.3. Análisis de la expresión del gen delator <i>Uida</i>	134
3.1.4. Corolario.....	139
3.2. <i>Tom157</i>	140
3.2.1. Descripción de fenotipo mutante.....	140
3.2.2. Análisis de las alteraciones en el desarrollo reproductivo.....	143
3.2.3. Análisis de la expresión del gen delator <i>Uida</i>	150
3.2.4. Corolario.....	150
3.3. <i>Tom316</i>	152

ÍNDICE

3.3.1. Descripción de fenotipo mutante.....	152
3.3.2. Análisis de las alteraciones en el desarrollo reproductivo.....	154
3.3.3. Análisis de la expresión del gen delator <i>UidA</i>	160
3.3.4. Análisis genético de la descendencia procedente del cruce entre el mutante y el WT.....	162
3.3.5. Corolario.....	164
3.4. <i>Tom497</i>	165
3.4.1. Descripción de fenotipo mutante.....	165
3.4.2. Análisis de las alteraciones en el desarrollo reproductivo.....	169
3.4.3. Análisis de la expresión del gen delator <i>UidA</i>	172
3.4.4. Análisis genético de la descendencia procedente del cruce entre el mutante y el WT.....	176
3.4.5. Corolario.....	180
3.5. <i>Tom24</i>	181
3.5.1. Descripción de fenotipo mutante.....	181
3.5.2. Análisis de las alteraciones en el desarrollo reproductivo.....	185
3.5.3. Análisis de la expresión del gen delator <i>UidA</i>	192
3.5.4. Análisis genético de la descendencia procedente del cruce entre el mutante y el WT.....	195
3.5.5. Corolario.....	199
DISCUSIÓN.....	201
1. Utilidad de los mutantes para la disección genética de caracteres complejos.....	201
2. Generación de una colección de líneas T-DNA en tomate.....	205
3. Mutantes partenocárpicos y alteraciones en el desarrollo vegetativo.....	208
4. Mutantes partenocárpicos y alteraciones en el desarrollo reproductivo.....	212
5. Mutantes partenocárpicos y alteraciones en la tasa de cuajado de fruto.....	215
6. Mutantes partenocárpicos y androesterilidad.....	218
7. Mutantes partenocárpicos y desarrollo de los óvulos.....	221
8. Inferencias en torno a la base de la expresión del gen delator y la inserción del T-DNA	223
CONCLUSIONES.....	229
BIBLIOGRAFÍA.....	233

