

Índice

Resúmenes	VII
Introducción	2
1. El tomate	1
1.1. Nomenclatura y taxonomía	1
1.2. Origen, domesticación y expansión	1
1.3. Características generales de la planta de tomate	2
1.4. Desarrollo vegetativo	3
1.4.1. Modelo de crecimiento	3
1.4.2. Hojas	3
1.5. Desarrollo reproductivo	5
1.5.1. Morfología floral	5
1.5.2. Inflorescencias	7
1.6. Fructificación y desarrollo del fruto	8
1.6.1. Polinización y fecundación	8
1.6.2. Desarrollo del fruto de tomate	9
1.7. Estructura del fruto de tomate	10
1.8. Genes que controlan el tamaño y forma del fruto	11
2. Giberelinas	12
2.1. Estructura química	12
2.2. Biosíntesis	13
2.2.1. Síntesis de <i>ent</i> -kaureno a partir de geranilgeranildifosfato (GGDP)	13
2.2.2. Conversión de <i>ent</i> -kaureno en GA ₁₂	13
2.2.3. Síntesis de GAs de 19 y 20 carbonos a partir de GA ₁₂	13
2.3. Actividad biológica	15
2.4. Genes implicados en el metabolismo de las GAs	15
2.4.1. Genes del metabolismo de GAs en tomate	16
2.5. Regulación de la ruta biosintética	18
2.5.1. Regulación homeostática	18
2.5.2. Regulación por otras hormonas	18
2.6. Mecanismo de señalización por GAs	19
3. Auxinas	21
3.1. Estructura química	21
3.2. Biosíntesis de IAA	21
3.3. Mecanismo de señalización por auxinas	22
4. Brasinosteroides	23
4.1. Estructura química	23
4.2. Biosíntesis	24
5. Regulación hormonal del desarrollo del fruto en tomate	25
5.1. Giberelinas y fructificación	25
5.2. Auxinas y fructificación	26

5.3. Brasinosteroides y fructificación	27
6. El cultivar Micro-Tom	27
Objetivos	29
Resultados I	33
Caracterización fenotípica de MT y sus mutantes	33
1. Caracterización vegetativa.	36
1.1. Altura	37
1.2. Morfología de la hoja	37
1.3. Número de hojas	38
1.4. Diámetro del entrenudo.....	39
1.5. Efecto de los transgenes <i>pSIGA20ox1::GUS</i> y <i>DR5::GUS</i> sobre el fenotipo vegetativo de las líneas mutantes	39
2. Caracterización reproductiva	39
2.1. Número de flores en la inflorescencia terminal	40
2.2. Tiempo de floración	41
2.3. Área de los sépalos.....	43
2.4. Área de los pétalos	43
2.5. Longitud del cono estaminal	43
2.6. Longitud pistilo	44
2.7. Número de pétalos.....	44
2.8. Efecto de los transgenes <i>pSIGA20ox1::GUS</i> y <i>DR5::GUS</i> sobre el fenotipo reproductivo de las líneas mutantes	47
2.9. Porcentaje de partenocarpia	49
2.9.1. Ensayo de partenocarpia en plantas con flores no manipuladas (partenocarpia natural).....	50
2.9.2. Ensayo de partenocarpia en plantas con flores emasculadas (partenocarpia inducida) 50	
3. Fenotipo de ramificación	51
3.1. Tasa de ramificación.....	53
3.2. Ramificación por posición de la yema axilar	53
3.3. Efecto de los transgenes <i>pSIGA20ox1::GUS</i> y <i>DR5::GUS</i> sobre la ramificación de las líneas mutantes.....	56
3.4. Longitud final de los brotes laterales	56
3.5. Efecto de los transgenes <i>pSIGA20ox1::GUS</i> y <i>DR5::GUS</i> sobre la longitud de los brotes axilares de las líneas mutantes	57
Resultados II	59
Localización de la expresión de <i>SIGA20ox1</i> en ovarios durante la fructificación	59
II.A.- Análisis de la expresión de <i>SIGA20ox1</i> en ovario mediante el gen delator <i>GUS</i>	61
1. Introducción.....	61
2. Expresión de <i>pSIGA20ox1::GUS</i> en MT.....	61

3.	Expresión de <i>pSIGA20ox1::GUS</i> en la línea <i>35S::CsGA20ox1</i> -----	64
4.	Expresión de <i>pSIGA20ox1::GUS</i> en la línea <i>procera</i> -----	66
5.	Expresión de <i>pSIGA20ox1::GUS</i> en la línea <i>Dwarf</i> -----	68
6.	Expresión de <i>pSIGA20ox1::GUS</i> en el híbrido <i>Dwarf/35S::CsGA20ox1</i> -----	71
7.	Expresión de <i>pSIGA20ox1::GUS</i> en la línea <i>dgt</i> -----	73
8.	Expresión de <i>pSIGA20ox1::GUS</i> en la línea <i>entire</i> -----	75
II. B:	Análisis de la expresión de <i>SIGA20ox1</i> mediante hibridación <i>in situ</i> . -----	77
1.	Introducción -----	77
2.	Diseño de las sondas mediante análisis <i>in silico</i> -----	77
3.	Selección de la sonda a utilizar -----	79
4.	Localización de transcritos en ovarios tras polinización -----	80
5.	Localización en ovarios no polinizados tratados con auxina -----	81
Resultados III	-----	83
	Localización espacial y temporal de auxinas en el ovario durante la fructificación -----	83
III.A.-	Análisis de la expresión de <i>DR5</i> en ovario mediante el gen delator <i>GUS</i> -----	85
1.	Introducción -----	85
2.	Expresión de <i>DR5</i> en MT -----	85
3.	Expresión de <i>DR5</i> en la línea <i>Dwarf</i> -----	88
4.	Expresión de <i>DR5</i> en la línea <i>entire</i> -----	90
III.B.	Análisis del contenido de IAA en el ovario mediante inmunolocalización -----	92
Discusión	-----	95
	Fenotipo de MicroTom (MT) y mutantes hormonales -----	97
	Regulación hormonal de la ramificación -----	99
	Expresión de <i>pSIGA20ox1</i> durante la fructificación utilizando <i>GUS</i> como gen delator-----	100
	Expresión de <i>SIGA20ox1</i> durante la fructificación mediante hibridación <i>in situ</i> -----	102
	Localización de IAA durante la fructificación utilizando la expresión de <i>DR5</i> -----	103
	Inmunolocalización de IAA en el ovario durante la fructificación-----	104
Conclusiones	-----	107
Material y Métodos	-----	111
1.	Material vegetal -----	113
2.	Caracterización fenotípica de las líneas transgénicas y mutantes -----	114
3.	Análisis estadístico-----	115

4.	Cultivo de las plantas	116
5.	Tratamientos hormonales.....	116
6.	Fertilización cruzada	116
7.	Soluciones y medios de cultivo.....	117
7.1.	Cultivo <i>in vitro</i> de plantas	117
7.2.	Medios de cultivo bacteriológicos	117
7.3.	Antibióticos	118
8.	Métodos de biología molecular.....	118
9.	Preparación de la construcción <i>pSIGA20ox1::GUS</i>	120
10.	Transformación genética de tomate	120
10.1.	Obtención de explantes de hoja	121
10.2.	Preparación del cultivo de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> para la transformación	121
10.3.	Cocultivo e inducción de caulogénesis.....	121
10.4.	Enraizamiento de los ápices producidos y aclimatación	121
10.5.	Evaluación del nivel de ploidía	122
10.6.	Selección de transformantes por kanamicina	122
11.	Hibridación <i>in situ</i>	122
11.1.	Obtención de las sondas	122
11.2.	Transcripción <i>in vitro</i> de la sonda	123
11.3.	Fijación del material	123
11.4.	Deshidratación del material	123
11.5.	Inclusión del material en parafina.....	123
11.6.	Corte histológico de las muestras	124
11.7.	Desparafinado de los portaobjetos.....	124
11.8.	Hibridación de la sonda.....	124
11.9.	Lavados posthibridación y detección inmunológica de la señal	124
12.	Análisis de actividad GUS	125
12.1.	Actividad GUS en cortes histológicos	125
12.2.	Actividad GUS en plántulas	126
13.	Inmunolocalización de IAA	126
13.1.	Procesado de las muestras.....	126
	Bibliografía	129