

# ÍNDICE GENERAL

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<hr/>	
<b>1. Frutos cítricos</b>	<b>1</b>
1.1. Importancia e interés	1
1.2. Origen, dispersión y desarrollo	1
<b>2. Carotenoides</b>	<b>3</b>
2.1. Estructura química y diversidad en la naturaleza	3
2.2. Propiedades e importancia de los carotenoides	4
2.3. Biosíntesis de carotenoides en plantas superiores	5
a. Síntesis de carotenoides lineales	8
b. Ciclación del licopeno	8
c. Formación de xantofilas	9
2.4. Regulación de carotenoides en plantas superiores	10
a. Regulación transcripcional de la biosíntesis de carotenoides	10
b. Acumulación de carotenoides en frutos	11
c. Catabolismo de carotenoides	12
d. Otros mecanismos de regulación	14
<b>3. Carotenoides en frutos cítricos</b>	<b>14</b>
3.1. Biosíntesis de carotenoides y su regulación en frutos cítricos	16
3.2. Cambios en carotenoides durante la conservación postcosecha	19
3.2.1. Efecto de las bajas temperaturas en la carotenogénesis	19
a. Temperaturas durante la precosecha	19
b. Temperaturas durante la postcosecha	20
3.2.2. Efecto del acondicionamiento térmico en la carotenogénesis	22
3.2.3. Etileno y la maduración de frutos: implicación en la carotenogénesis	25
<b>OBJETIVOS</b>	<b>37</b>
<hr/>	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>41</b>
<hr/>	
<b>1. Material vegetal</b>	<b>41</b>
1.1. Frutos cítricos	41

a. Naranjas ( <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck)	41
b. Mandarinas e híbridos de mandarinas	41
1.2. Toma de muestra de material vegetal	42
<b>2. Estimación del índice de color</b>	<b>42</b>
<b>3. Tratamientos de los frutos</b>	<b>42</b>
3.1. Conservación refrigerada	43
3.2. Conservación refrigerada y tratamiento con 1-MCP	43
3.3. Tratamiento de curado térmico y aplicación de etileno	44
3.4. Tratamientos con etileno y con 1-MCP	45
a. Tratamiento postcosecha	47
b. Tratamiento en campo	47
<b>4. Determinación del índice de madurez</b>	<b>48</b>
<b>5. Determinación de etileno por cromatografía de gases</b>	<b>48</b>
<b>6. Extracción y cuantificación de pigmentos</b>	<b>49</b>
<b>7. Identificación y cuantificación de carotenoides mediante HPLC-PDA</b>	<b>51</b>
<b>8. Extracción y purificación de RNA total</b>	<b>53</b>
<b>9. RT-PCR cuantitativa (RT-qPCR) a tiempo real</b>	<b>54</b>
9.1. Diseño de cebadores para la RT-qPCR a tiempo real	54
9.2. Análisis de expresión mediante RT-qPCR a tiempo real	54
a. Curvas de calibrado	54
b. Reacción de RT-qPCR a tiempo real	55
<b>10. Análisis del proteoma mediante electroforesis bidimensional</b>	<b>56</b>
10.1. Diseño experimental	56
10.2. Extracción de proteínas totales	56
10.3. Electroforesis de proteínas en dos dimensiones y tinción de plata	57
10.4. Análisis de imagen e identificación de proteínas por espectrofotometría de masas	57
<b>11. Programas informáticos</b>	<b>58</b>

<b>RESULTADOS</b>	<b>59</b>
<b>CAPÍTULO I. EFECTO DE LA TEMPERATURA DE CONSERVACIÓN EN LA BIOSÍNTESIS Y ACUMULACIÓN DE CAROTENOIDES EN FRUTOS DE DISTINTAS VARIEDADES DE CÍTRICOS</b>	<b>61</b>
<b>1. Efecto de la temperatura de conservación sobre la biosíntesis y acumulación de carotenoides en frutos de naranja 'Navelina' en diferentes estadios de maduración</b>	<b>63</b>
1.1. Cambios en el color externo e interno en frutos de naranja 'Navelina' durante la conservación a 2 y 12 °C	64
1.2. Evolución del contenido de clorofilas y carotenoides totales en el flavedo y en la pulpa de frutos de naranja 'Navelina' durante la conservación a 2 y 12 °C	67
1.3. Composición de carotenoides en el flavedo y en la pulpa de frutos de naranja 'Navelina' durante la conservación a 2 y 12 °C	69
1.4. Análisis de la expresión de genes de la biosíntesis de carotenoides en el flavedo y en la pulpa de frutos de naranja 'Navelina' durante la conservación a 2 y 12 °C	76
1.5. Análisis de la acumulación diferencial de proteínas en el flavedo y en la pulpa de frutos de naranja 'Navelina' durante la conservación a 2 y 12 °C	81
<b>2. Efecto de la temperatura de conservación sobre la biosíntesis y acumulación de carotenoides en frutos de naranja 'Navelate' y de mandarina 'Clemenules'</b>	<b>85</b>
2.1. Cambios en el color externo e interno de los frutos durante la conservación a 2 y 12 °C	86
2.2. Evolución del contenido en clorofilas y carotenoides totales durante la conservación a 2 y 12 °C	87
<b>3. Estudio de la implicación del etileno en la estimulación de la carotenogénesis durante la conservación a 12 °C: Efecto de la aplicación de 1-MCP a frutos de mandarina 'Clemenules'</b>	<b>89</b>
3.1. Cambios en el color externo e interno de los frutos	90
3.2. Evolución del contenido y la composición de carotenoides en el flavedo y en la pulpa de los frutos	91

3.3. Análisis de la expresión de genes de la biosíntesis de carotenoides en el flavedo y la pulpa	95
---	----

---

<b>CAPÍTULO II. EFECTO DEL ACONDICIONAMIENTO TÉRMICO EN LA BIOSÍNTESIS Y ACUMULACIÓN DE CAROTENOIDES EN FRUTOS CÍTRICOS</b>	<b>98</b>
---	-----------

---

<b>1. Caracterización de la biosíntesis y acumulación de carotenoides durante el periodo de curado y posterior aplicación de etileno en frutos de mandarina 'Fortune'</b>	<b>99</b>
---	-----------

1.1. Evolución del color del flavedo de frutos de mandarina 'Fortune' durante el curado y posterior aplicación de etileno	99
---	----

1.2. Evolución del contenido de clorofilas y carotenoides en el flavedo y en la pulpa de frutos de mandarina 'Fortune' durante el curado y posterior aplicación de etileno	101
--	-----

1.3. Composición y contenido de carotenoides en el flavedo y en la pulpa de frutos de mandarina 'Fortune' durante el curado y posterior aplicación de etileno	103
---	-----

1.4. Análisis de la expresión de los genes de la biosíntesis de carotenoides en el flavedo de frutos de mandarina 'Fortune' durante el curado y posterior aplicación de etileno	110
---	-----

<b>2. Caracterización de la biosíntesis y acumulación de carotenoides durante el periodo de curado y posterior aplicación de etileno en frutos de naranja 'Navelina'</b>	<b>111</b>
--	------------

2.1. Evolución del color del flavedo de frutos de naranja 'Navelina' durante el curado y posterior aplicación de etileno	112
--	-----

2.2. Evolución del contenido de clorofilas y carotenoides en el flavedo de frutos de naranja 'Navelina' durante el curado y posterior aplicación de etileno	113
---	-----

2.3. Composición y contenido de carotenoides en el flavedo y en la pulpa de frutos de naranjas 'Navelina' durante el curado y posterior aplicación de etileno	115
---	-----

2.4. Análisis de la expresión de los genes de la biosíntesis de carotenoides en el flavedo de frutos de naranja 'Navelina' durante el curado y posterior aplicación de etileno	120
--	-----

<b>CAPÍTULO III. PAPEL DEL ETILENO EN LA BIOSÍNTESIS Y ACUMULACIÓN DE CAROTENOIDES EN FRUTOS DE DISTINTAS VARIEDADES MANDARINAS</b>	<b>123</b>
<b>1. Estudio del papel del etileno endógeno en la biosíntesis y acumulación de carotenoides en el flavedo durante la postcosecha de frutos de mandarina</b>	<b>123</b>
1.1. Efecto de la aplicación del inhibidor de la acción del etileno 1-MCP durante la postcosecha de frutos de mandarina 'Fortune' en tres estadios de maduración	124
1.1.1. Cambios en el color externo y en el contenido de clorofilas y carotenoides totales	124
1.1.2. Evolución de la composición de carotenoides en el flavedo	127
1.1.3. Análisis de la expresión de los genes de la biosíntesis de carotenoides en el flavedo	131
1.2. Efecto de la aplicación del inhibidor de la acción del etileno 1-MCP durante la postcosecha de frutos de mandarina 'Clemenules' en tres estadios de maduración	134
1.2.1. Cambios en el color externo y en el contenido de clorofilas y carotenoides totales	135
1.2.2. Evolución de la composición de carotenoides en el flavedo	139
1.2.3. Análisis de la expresión de genes de la biosíntesis de carotenoides en el flavedo	144
<b>2. Estudio del papel del etileno endógeno en la biosíntesis y acumulación de carotenoides en el flavedo durante la maduración natural de frutos de mandarina</b>	<b>147</b>
2.1. Efecto de la aplicación del inhibidor de la acción del etileno 1-MCP a frutos en el árbol de mandarina 'Fortune'	147
2.2. Efecto de la aplicación del inhibidor de la acción del etileno 1-MCP a frutos en el árbol de mandarina 'Clemenules'	149
2.2.1. Cambios en el color externo y en el contenido de clorofilas y carotenoides totales	150
2.2.2. Evolución de la composición de carotenoides en el flavedo	152
2.2.3. Análisis de la expresión de genes de la biosíntesis de carotenoides en el flavedo	154

<b>DISCUSIÓN</b>	<b>159</b>
<b>1. Efecto de la conservación a bajas temperaturas en la coloración de distintas variedades de frutos cítricos</b>	<b>159</b>
1.1. Caracterización bioquímica y molecular de la biosíntesis y acumulación de carotenoides durante la conservación refrigerada de naranjas y mandarinas	159
1.2. Caracterización proteómica de frutos de naranjas 'Navelina' durante la conservación a bajas temperaturas	166
1.3. Papel del etileno en la carotenogénesis de frutos de mandarinas 'Clemenules' durante la conservación a bajas temperaturas	169
<b>2. Efecto del acondicionamiento térmico en frutos de naranjas y mandarinas: Cambios en la biosíntesis y acumulación de carotenoides</b>	<b>172</b>
2.1. Bases bioquímicas	172
2.2. Bases moleculares	177
<b>3. Papel del etileno en la carotenogénesis de los frutos cítricos</b>	<b>180</b>
3.1. 'Fortune' y 'Clemenules': dos variedades de mandarina con distinta velocidad de coloración	182
3.2. Efecto del 1-MCP en la coloración de frutos de mandarinas	184
3.3. Efecto del etileno en la expresión de los genes de biosíntesis de carotenoides en los frutos de mandarina durante la maduración natural y durante la postcosecha	187
3.4. La inhibición de la acción del etileno provoca manchados y deterioros en la piel de los frutos de la mandarina Clemenules	189
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>193</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>199</b>