

Resumen

La evolución ha proporcionado una gran diversidad genética, permitiendo a las plantas superar muchas presiones bióticas. Las plantas han desarrollado diversas adaptaciones morfológicas y bioquímicas para hacer frente a los ataques de los herbívoros. A pesar de ello, anualmente, alrededor del 40 % de la producción mundial de cultivos se pierde debido a plagas y patógenos, siendo un 13 % debido a insectos. *Tuta absoluta* se ha convertido en una de las principales plagas que amenazan los cultivos de tomate en todo el mundo y sin la gestión adecuada puede causar pérdidas de producción entre el 80 y el 100 %. Para hacer frente a esta amenaza, necesitamos fortalecer los arsenales de defensa de las plantas. La incorporación a las plantas, mediante ingeniería genética, de genes defensivos como los inhibidores de proteinasas es una alternativa prometedora.

En el primer capítulo de este trabajo se investigó la actividad inhibitoria de dos inhibidores de tripsina procedentes de cebada; BTI-CMe y BTI-CMc. Además, se logró aumentar la actividad inhibitoria de BTI-CMc mediante la introducción de una única mutación en su putativo centro activo.

En el segundo capítulo, se investigó el efecto *in vivo* de un inhibidor de serin proteinasa (BTI-CMe) y un inhibidor de cisteín proteinasa (Hv-CPI2) aislado de cebada en *Tuta absoluta* y se examinó el efecto de su expresión en la respuesta defensiva del tomate. Se encontró que las larvas alimentadas con las plantas transgénicas dobles mostraron una notable reducción de peso. Además, sólo el 56 % de las larvas alcanzó la etapa adulta. Los adultos emergentes mostraron deformidades de las alas y reducción de la fertilidad. También se investigó el efecto de la ingesta de inhibidores de proteinasa en las enzimas digestivas de los insectos. Nuestros resultados mostraron una disminución en la actividad tripsina larvaria. Los inhibidores de proteinasas no tuvieron efectos nocivos sobre *Nesidiocoris tenuis* (depredador de *Tuta absoluta*) a pesar de que las plantas transgénicas de tomate atrajeron al mirido. Se investigó si los mecanismos defensivos de las plantas se activaban en las plantas de tomate transgénico y se encontró que, curiosamente, la expresión de la cistatina de cebada promovía la defensa de la planta, induciendo el gen del *inhibidor de proteasa 2* endógeno del tomate, inducible por herida (*Pin2*). Además, aumentó la producción de tricomas glandulares y se alteró la emisión de compuestos orgánicos volátiles. Nuestros resultados demuestran la utilidad de la co-expresión de diferentes inhibidores de proteinasas para el aumento de la resistencia de las plantas a plagas.