

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	
Generalidades de chile habanero	3
Metabolismo secundario y cultivo de tejidos	6
Asimilación de nitrógeno en plantas	7
Nitroso reductasa	9
Nitrito reductasa	10
Glutamato deshidrogenasa	10
Glutamino sintetasa	10
Glutamato sintasa	11
Síntesis de aminoácidos aromáticos	11
Corismato mutasa	13
Prefenato deshidratasa	13
Arogenato deshidratasa	14
Regulación de la expresión génica	14
Regulación de la actividad de la enzima nitroso reductasa (NR) por tungstato	15
Regulación de la glutamino sintetasa (GS) por metionina sulfoximina	17
Regulación por retroalimentación de la arogenato deshidratasa (ADT)	18
Inducción del metabolismo secundario con ácido salicílico y jasmonato de metilo	20
Cambios del metabolismo a través de la modificación de fuentes nitrogenadas	23
JUSTIFICACIÓN	25
OBJETIVOS	
Objetivo general	27
Objetivos particulares	27
MATERIALES Y MÉTODOS	
Estrategia experimental	29
Material biológico	30

Desinfestación de chile habanero	30
Recubrimiento de las placentalas de chile habanero	30
Inducción del metabolismo secundario con ácido salicílico y jasmonato de metilo	32
Protocolo para la determinación del contenido de capsaicinoides	32
Protocolo para cuantificar la actividad de la nitrato reductasa (NR)	33
Protocolo para cuantificar la actividad de la glutamino sintetasa (GS)	34
Protocolo para la obtención de arogenato y cuantificación de fenilalanina	34
Protocolo para cuantificar la actividad de la arogenato deshidratasa (ADT)	36
Obtención del ARN	37
Procedimiento para evaluar los niveles de expresión por medio de la técnica de RT-PCR	38
Determinación de proteínas	40
Modificación del metabolismo del nitrógeno a través de la adición de diferentes niveles de este elemento al medio de cultivo	40
Inhibición con tungstato de la enzima nitrato reductasa (NR)	41
Inhibición de la enzima glutamino sintetasa (GS) con metionina sulfoximina	41
Inhibición de la enzima arogenato deshidratasa mediante <i>p</i> -fluorofenilalanina	42
Protocolo de viabilidad por el método de azul de Evans	42
Análisis estadísticos	43
 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
Germinación y ontogenia del fruto de chile habanero	45
Estandarización del protocolo para la obtención del arogenato y cuantificación de la fenilalanina	46
Modificación de la síntesis de capsaicinoides y de las enzimas involucradas y enzimas del metabolismo primario del nitrógeno por efecto de la aplicación del ácido salicílico o del jasmonato de metilo	52
Efecto de la variación del contenido de nitrógeno total sobre el metabolismo primario y el secundario de placentalas de chile habanero	60
Efecto del tungstato de sodio en el metabolismo primario y el secundario de placentalas de chile habanero	64
Efecto de la metionina sulfoximina en el metabolismo primario y el secundario de placentalas de chile habanero	68
Efecto de la <i>p</i> -fluorofenilalanina sobre el metabolismo primario y el secundario de placentalas de chile habanero	72
Perfil metabólico de las placentalas durante los experimentos de inhibición	76
Discusión general	81

CONCLUSIONES	87
PERSPECTIVAS	89
BIBLIOGRAFÍA	91
ANEXOS	
Publicación	103