

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN 1

ANTECEDENTES 5

Embriogénesis somática 5

Interacciones moleculares durante la ES 6

El Cafeto 12

Cultivo *in vitro* del cafeto 13

Epigenética 14

Metilación del ADN 16

Metilación del ADN durante la embriogénesis somática 21

Modificaciones postraduccionales de histonas en plantas 23

Acetilación de histonas 25

Fosforilación de histonas 27

Ubiquitinación y sumoilación de histonas 28

Metilación de histonas 29

Metilación de K4 en la histona H3 31

Metilación de K9 en la histona H3 33

Metilación de K27 en la histona H3 35

Metilación de K36 en la histona H3 37

OBJETIVOS 39

Objetivo general 39

Objetivos particulares 39

MATERIALES Y MÉTODOS 41

Plántulas y condiciones de cultivo 41

Inducción de la embriogénesis somática 41

Microscopía electrónica de barrido (MEB) 41

Análisis histológicos 42

Análisis del patrón de metilación de ADN 42

Tratamientos con 5-azacitidina 43

Extracción y análisis de metilación de la histona H3 43

Análisis de secuencias y diseño de iniciadores	44
Aislamiento de ARN y generación del ADN complementario (ADNc)	45
Reacciones de PCR	46
Aislamiento y purificación de transcritos	46
Immunoprecipitación de la cromatina (ChIP)	47
Análisis estadísticos	49
 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	 51
Inducción, morfología e histología de la embriogénesis somática en <i>Coffea canephora</i>	51
Cambios en la metilación del ADN durante la embriogénesis somática	55
Efecto de 5-azacitidina durante la inducción de la embriogénesis somática	56
Efecto de 5-azacitidina en la metilación del ADN durante la embriogénesis somática	58
Patrones de metilación de histonas durante la embriogénesis somática	60
Perfil de expresión de genes durante la embriogénesis somática	62
Regulación epigenética de <i>CcBBM1</i>, <i>CcLEC1</i> y <i>CcWOX4</i> durante la embriogénesis somática	67
La 5-azacitidina afecta la actividad transcripcional de <i>CcLEC1</i> y <i>CcBBM1</i>	70
Discusión	73
 CONCLUSIONES	 83
 REFERENCIAS	 85
 ANEXO I	 107
Índice de abreviaturas	107
 ANEXO II	 111
Índice de figuras	111
 ANEXO III	 113
Índice de tablas	113
 ANEXO IV	 115
Lista de reactivos	115
 PUBLICACIÓN	 119