
ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
BIBLIOGRAFÍA	3
CAPÍTULO I	7
ANTECEDENTES	7
1.1 NUTRICIÓN VEGETAL	7
1.1.1 MACRONUTRIENTES Y MICRONUTRIENTES	7
1.1.2 EL NITRÓGENO	9
1.2 MORFOLOGÍA DE LA RAÍZ Y SU IMPORTANCIA EN LA ABSORCIÓN DE NITRÓGENO...	10
1.3 POSIBLES DESTINOS DEL NITRATO EN LAS PLANTAS	11
1.4 MECANISMOS DE ABSORCIÓN DEL NITRÓGENO POR LAS RAÍCES DE LAS PLANTAS	13
1.4.1 TRANSPORTADORES DE NITRATO	15
1.4.2 TRANSPORTADORES DE AMONIO	15
1.4.3 TRANSPORTADORES DE NITRÓGENO ORGÁNICO	16
1.5 VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ACTIVADAS COMO RESPUESTA A LA PRESENCIA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO EN PLANTAS	17
1.6 TRÁFICO INTRACELULAR DE VESÍCULAS	21
1.6.1 COMPONENTES DEL TRÁFICO INTRACELULAR DE VESÍCULAS	22
1.6.1.1 LOS ENDOSOMAS: DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN	22
1.6.1.2 LA PROTEÍNA DE CUBIERTA RETRÓMERO	24

1.6.1.3 OTRAS PROTEÍNAS QUE PARTICIPAN EN EL TRÁFICO DE VESÍCULAS	26
1.6.2 PROCESOS VEGETALES EN LOS QUE PARTICIPA EL TRÁFICO DE ENDOSOMAS	28
1.6.2.1 GRAVITROPISMO	28
1.6.2.2 TRANSPORTE DE AUXINAS	29
1.6.2.3 PATOGÉNESIS E INMUNIDAD	30
1.6.2.4 TRANSPORTE DE BORO	30
1.6.2.5 SEÑALIZACIÓN HORMONAL	31
1.6.3 HERRAMIENTAS PARA EL ESTUDIO DEL TRÁFICO INTRACELULAR DE VESÍCULAS	31
1.6.3.1 INHIBIDORES DE TRÁFICO VESICULAR	32
1.6.3.1.1 WORTMANINA	32
1.6.3.1.2 Brefeldina A	34
1.6.3.1.3 Concanamicina A	35
1.6.3.1.4 Colorante FM4-64	38
1.7 MODELO DE ESTUDIO: <i>Capsicum chinense</i> Jacq.	41
1.7.1 CAMBIOS DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA EN EL SISTEMA RADICULAR DE <i>Capsicum chinense</i> Jacq. INDUCIDOS POR NITRATO	42
1.8 HIPÓTESIS	44
1.9 OBJETIVO GENERAL	44
1.9.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
1.10 JUSTIFICACIÓN	45
1.11 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	46
BIBLIOGRAFÍA	47

CAPÍTULO II	65
EFECTO DEL NITRATO SOBRE EL TRÁFICO VESICULAR EN EL ÁPICE RADICULAR DE CHILE HABANERO (<i>CAPSICUM CHINENSE</i> JACQ.)	65
2.1. INTRODUCCIÓN	65
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS	68
2.2.1 MATERIAL VEGETAL	68
2.2.2 ESTERILIZACIÓN SUPERFICIAL DE LAS SEMILLAS	68
2.2.3 GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS	68
2.3 EFECTO DEL NITRATO SOBRE EL TRÁFICO INTRACELULAR DE VESÍCULAS EN EL ÁPICE RADICULAR DE CHILE HABANERO	69
2.3.1 EFECTO DEL NITRATO SOBRE LA DISTRIBUCIÓN DEL FM4-64 DENTRO DE LAS CÉLULAS	69
2.3.2 EFECTO DEL NITRATO SOBRE LA INTERNALIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DEL FM4-64 DENTRO DE LA CÉLULA	70
2.4 CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO CAUSADO POR EL NITRATO SOBRE VÍAS ENDOCÍTICAS ESPECÍFICAS, A TRAVÉS DEL USO DE INHIBIDORES DEL TRÁFICO VESICULAR	70
2.5 CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO CAUSADO POR EL NITRATO SOBRE VÍAS ENDOCÍTICAS ESPECÍFICAS, A TRAVÉS DEL USO DE INHIBIDORES DEL TRÁFICO VESICULAR Y EL MOVIMIENTO DINÁMICO DE LAS VESÍCULAS POR MICROSCOPÍA DE FLUORESCENCIA DE REFLEXIÓN INTERNA TOTAL (TIRFM)	71
2.6 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE TRANSCRITO DE <i>VPS26</i> , EN LA RAÍZ DE CHILE HABANERO EXPUESTAS A CONDICIONES HETEROGÉNEAS DE NITRATO	72
2.6.1 APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO DE NITRATO	72
2.6.2. CURSO TEMPORAL A TIEMPOS CORTOS Y LARGOS	73

2.6.3 EXTRACCIÓN DE ARN	74
2.6.4 SÍNTESIS DE LA PRIMERA CADENA DE ADN COMPLEMENTARIO (ADNc)	74
2.6.5 ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DEL GEN <i>vps26</i> POR PCR PUNTO FINAL Y PCR EN TIEMPO REAL	75
2.6.5.1 PCR PUNTO FINAL	75
2.6.5.2 PCR EN TIEMPO REAL	75
2.7 RESULTADOS	76
2.7.1 DISTRIBUCIÓN DEL FM4-64 EN CÉLULAS DE LA RAÍZ TRATADA CON NITRATO	76
2.7.2 INTERNALIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DEL FM4-64 EN CÉLULAS DE LA RAÍZ TRATADA CON NITRATO	80
2.7.3 CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO CAUSADO POR EL NITRATO SOBRE VÍAS ENDOCÍTICAS ESPECÍFICAS, A TRAVÉS DEL USO DE INHIBIDORES DEL TRÁFICO INTRACELULAR DE VESÍCULAS	82
2.7.4 CARACTERIZACIÓN DEL EFECTO CAUSADO POR EL NITRATO SOBRE VÍAS ENDOCÍTICAS ESPECÍFICAS, A TRAVÉS DEL USO DE INHIBIDORES DEL TRÁFICO VESICULAR Y EL MOVIMIENTO DINÁMICO DE LAS VESÍCULAS POR MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA DE REFLEXIÓN INTERNA TOTAL (TIRFM)	91
2.7.5 ANÁLISIS DEL NIVEL DE TRANSCRITOS DEL <i>VPS26</i> EN EL ÁPICE RADICULAR DESPUÉS DE PERIODOS CORTOS Y LARGOS DE EXPOSICIÓN A NITRATO	96
2.7.5.1 NIVELES DE TRANSCRITO DEL GEN <i>VPS26</i> POR PCR PUNTO FINAL	96
2.7.5.2 CUANTIFICACIÓN DE TRANSCRITOS DEL GEN <i>VPS26</i> POR qPCR	98
2.8 DISCUSIÓN	99
BIBLIOGRAFÍA	110
CAPÍTULO III	121
EFFECTO DE INHIBIDORES DEL TRÁFICO VESICULAR SOBRE LOS CAMBIOS INDUCIDOS	

POR NITRATO EN EL CRECIMIENTO RADICULAR DE CHILE HABANERO	121
3.1. INTRODUCCIÓN	121
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	124
3.2.1 MATERIAL VEGETAL.....	124
3.2.2 ESTERILIZACIÓN, GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS	124
3.2.3. EFECTO DE LOS INHIBIDORES EN EL CRECIMIENTO DE LA RAÍZ EN RESPUESTA A NITRATO	124
3.3. RESULTADOS	125
3.3.1. CRECIMIENTO DE LA RAÍZ PRIMARIA DE CHILE HABANERO EN PRESENCIA DE INHIBIDORES DEL TRÁFICO VESICULAR.....	125
3.3.2. FORMACIÓN Y CRECIMIENTO DE RAÍCES LATERALES EN PRESENCIA DE INHIBIDORES DEL TRÁFICO VESICULAR.....	127
3.4. DISCUSIÓN	131
BIBLIOGRAFÍA	138
CAPÍTULO IV	149
4 CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS.....	149
4.1 CONCLUSIÓN	149
4.2 PERSPECTIVAS.....	150
ANEXO 1	153