

## INDICE

|                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. RESUMEN .....</b>                                                       | <b>1</b>  |
| <b>2. ABSTRACT.....</b>                                                       | <b>2</b>  |
| <b>3. INTRODUCCIÓN.....</b>                                                   | <b>3</b>  |
| <b>4. ANTECEDENTES .....</b>                                                  | <b>6</b>  |
| 4.1. Generalidades del achiote .....                                          | 6         |
| 4.2. Usos del achiote .....                                                   | 7         |
| 4.3. Compuestos Isoprenoides .....                                            | 9         |
| 4.4. Biosíntesis de Isoprenoides.....                                         | 9         |
| 4.5. Los Carotenoides .....                                                   | 12        |
| 4.6. Biosíntesis de Carotenoides .....                                        | 13        |
| 4.7. Mecanismos de Regulación en la Ruta de Biosíntesis de Carotenoides ..... | 18        |
| 4.8. La Bixina como Pigmento del Achiote.....                                 | 23        |
| 4.9. Biosíntesis de Bixina .....                                              | 23        |
| <b>5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>                                    | <b>25</b> |
| <b>6. JUSTIFICACIÓN .....</b>                                                 | <b>25</b> |
| <b>7. HIPOTESIS .....</b>                                                     | <b>25</b> |
| <b>8. OBJETIVOS.....</b>                                                      | <b>26</b> |
| 8.1. Objetivo General.....                                                    | 26        |
| 8.2. Objetivos Específicos: .....                                             | 26        |
| <b>9. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>                                           | <b>27</b> |
| 9.1 Material Vegetal.....                                                     | 27        |
| 9.1.1. Caracterización de estadios de maduración.....                         | 27        |

|                                                                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 9.2 Aislamiento de los genes <i>zds</i> y <i>crtsio</i> y su corroboración en <i>Bixa orellana</i> ...                            | 27        |
| 9.2.1 Aislamiento <i>in silico</i> de los genes <i>zds</i> y <i>crtsio</i> .....                                                  | 27        |
| 9.2.2. Amplificación y secuenciación de <i>zds</i> y <i>crtsio</i> .....                                                          | 28        |
| 9.4. Expresión de <i>zds</i> y <i>crtsio</i> a través del desarrollo de diferentes tejidos de la planta                           | 32        |
| 9.4.1. Aislamiento de RNA total y síntesis de cDNA .....                                                                          | 32        |
| 9.4.2. Amplificación.....                                                                                                         | 32        |
| 9.4.3. Análisis del nivel de expresión de <i>zds</i> y <i>crtsio</i> a través del desarrollo de diferentes tejidos por qPCR ..... | 32        |
| <b>10. RESULTADOS .....</b>                                                                                                       | <b>34</b> |
| 10.1. Material Vegetal.....                                                                                                       | 34        |
| 10.1.1. Caracterización de estadios de maduración .....                                                                           | 35        |
| 10.2. Aislamiento de los genes <i>zds</i> y <i>crtsio</i> y su corroboración en <i>Bixa orellana</i>                              | 36        |
| 10.2.1 Aislamiento <i>in silico</i> de los genes <i>zds</i> y <i>crtsio</i> .....                                                 | 36        |
| 10.2.2. Corroboración de secuencias de <i>zds</i> y <i>crtsio</i> .....                                                           | 41        |
| 10.3. Diseño de cebadores para análisis en tiempo real.....                                                                       | 48        |
| 10.4. Expresión de <i>zds</i> y <i>crtsio</i> a través del desarrollo de diferentes tejidos de la planta                          | 49        |
| 10.4.1. Aislamiento de RNA total.....                                                                                             | 49        |
| 10.4.2. Síntesis de cDNA.....                                                                                                     | 51        |
| 10.4.3. Amplificación.....                                                                                                        | 51        |
| 10.5. Análisis del nivel de expresión de <i>zds</i> y <i>crtsio</i> en diferentes tejidos.....                                    | 53        |
| 10.5.1. Análisis e interpretación de datos de la qPCR.....                                                                        | 53        |
| 10.5.2. Análisis de la expresión del gen <i>zds</i> .....                                                                         | 54        |
| 10.5.3. Análisis de la expresión del gen <i>crtsio1</i> .....                                                                     | 57        |
| 10.5.4. Análisis de la expresión del gen <i>crtsio2</i> .....                                                                     | 60        |

|                                                                                             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 10.5.5. Análisis comparativo de <i>zds</i> , <i>criso1</i> y <i>criso2</i> por tejido ..... | 63        |
| <b>11. DISCUSIÓN.....</b>                                                                   | <b>66</b> |
| <b>12. CONCLUSIONES.....</b>                                                                | <b>72</b> |
| <b>13. PERSPECTIVAS .....</b>                                                               | <b>73</b> |
| <b>14. BIBLIOGRAFÍA.....</b>                                                                | <b>74</b> |