

ÍNDICE

| | pág. |
|---|------|
| Resumen | 1 |
| Abstract | 3 |
| 1. Introducción | 5 |
| 2. Materiales y Métodos | 9 |
| 2.1. Material vegetal | 9 |
| 2.2. Expresión de genes luego de la adición de nitrato (experimento 1) | 9 |
| 2.3. Extracción de ARNm y síntesis de cADN para la medición de la expresión de genes candidatos a través del tiempo luego de la aplicación de nitrato | 10 |
| 2.4. PCR cuantitativa (qPCR) | 10 |
| 2.5. Sistema de raíces-divididas (split-root) para la determinación del efecto del nitrato sobre la expresión de genes del nódulo (experimento 2) | 11 |
| 2.6. Extracción de ARN, preparación de cADN y secuenciamiento del ARNm | 12 |
| 2.7. Análisis estadísticos | 12 |
| 3. Resultados | 13 |
| 3.1. Evaluación de la aplicación de nitrato sobre la expresión de genes en nódulos | 13 |
| 3.2. Efecto global de la aplicación de nitrato a nivel del transcriptoma de los nódulos | 17 |
| 3.3. Efecto de la aplicación de nitrato sobre genes involucrados en el metabolismo de N | 20 |
| 4. Discusión | 25 |
| 5. Conclusiones | 31 |
| 6. Citas bibliográficas | 32 |

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

| | pág. |
|---|------|
| Cuadro 1. Genes evaluados como indicadores de la regulación molecular de la fijación de N ₂ en nódulos de <i>M. truncatula</i> tratados con nitrato. | 13 |
| Cuadro 2. Número de genes expresados diferencialmente en nódulos tratados con nitrato en el experimento de raíz dividida (split-root). | 20 |
| Cuadro 3. Genes centinelas expresados diferencialmente en nódulos tratados con nitrato en el experimento de raíz dividida (split-root). | 21 |
| Figura 1. Expresión a través del tiempo del gen que codifica para leghemoglobina (Medtr5g041610.1) en diferentes órganos de <i>M. truncatula</i> luego de la aplicación de 5 mM de KNO ₃ . | 14 |
| Figura 2. Expresión a través del tiempo del gen que codifica para 'Hypoxia' (Medtr3g072170.1) en diferentes órganos de <i>M. truncatula</i> luego de la aplicación de 5 mM de KNO ₃ . | 15 |
| Figura 3. Expresión de nicotianamina sintasa (Medtr1g084050.1) en diferentes órganos de <i>M. truncatula</i> luego de la aplicación de 5 mM de KNO ₃ . | 16 |
| Figura 4. Expresión de un marcador de nitrato reductasa (Medtr3g073180.1), en diferentes órganos de <i>M. truncatula</i> luego de la aplicación de 5 mM KNO ₃ . | 17 |
| Figura 5. Análisis de cluster o agrupamiento de las muestras analizadas mediante secuenciamiento del ARNm. | 19 |
| Figura 6. Análisis de la expresión de genes involucrados en el transporte de nitrato en nódulos tratados con nitrato mediante el software MapMan. | 22 |
| Figura 7. Análisis de la expresión de genes involucrados la síntesis de ATP con el software MapMan. | 23 |
| Figura 8. Resumen de los procesos celulares en nódulos tras la aplicación de nitrato. | 24 |