

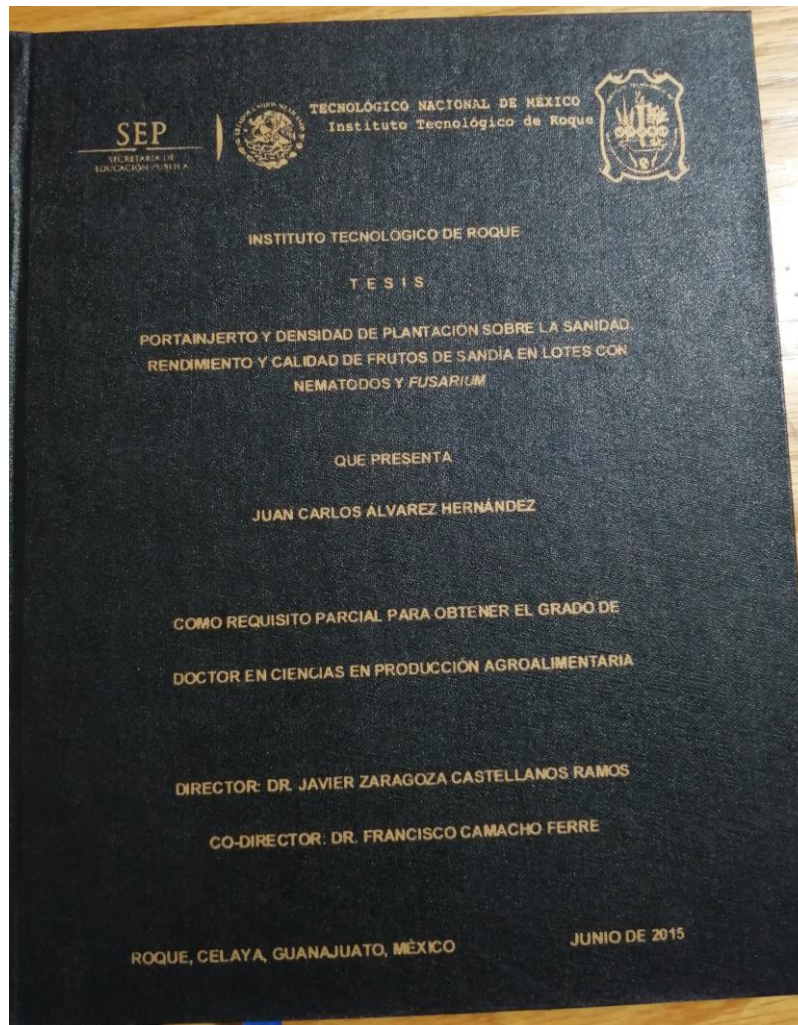
**RELACION DE TESIS DE GRADO DE DOCTORADO EN CIENCIAS EN
PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA**

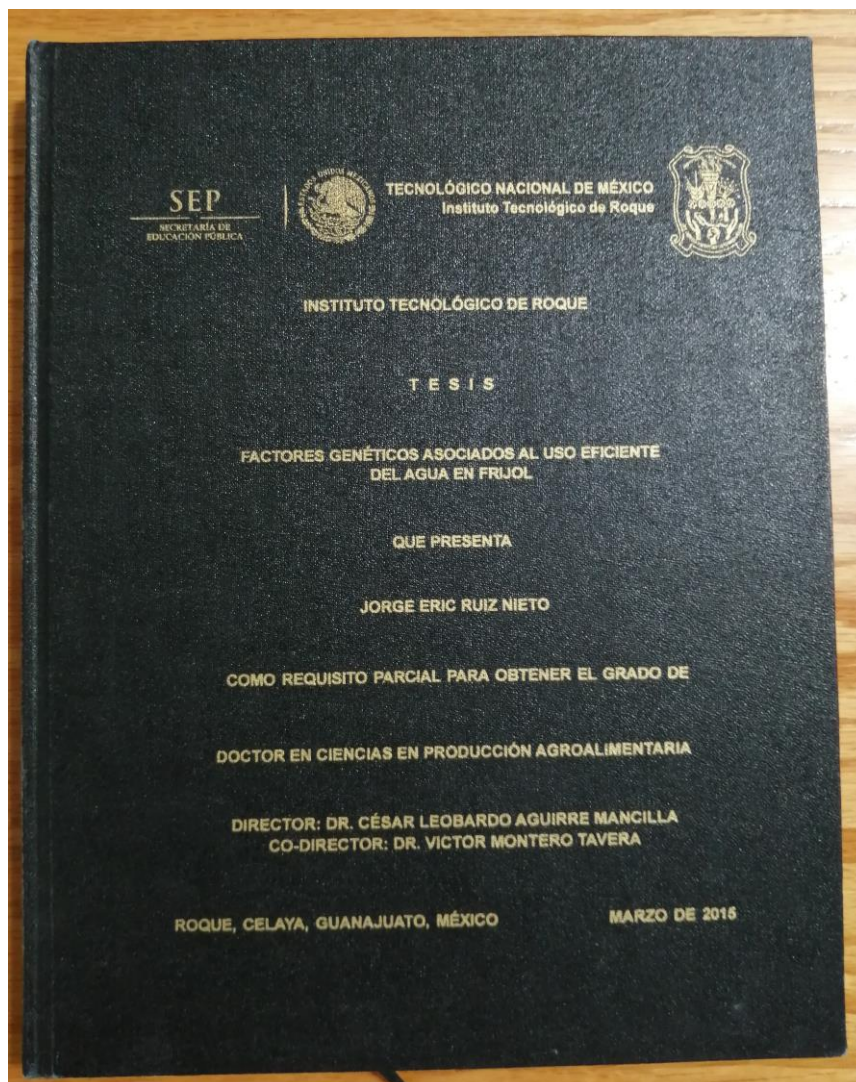
<http://itroque.edu.mx/DL2019/Repositorio%20Institucional%20de%20Tesis.pdf>

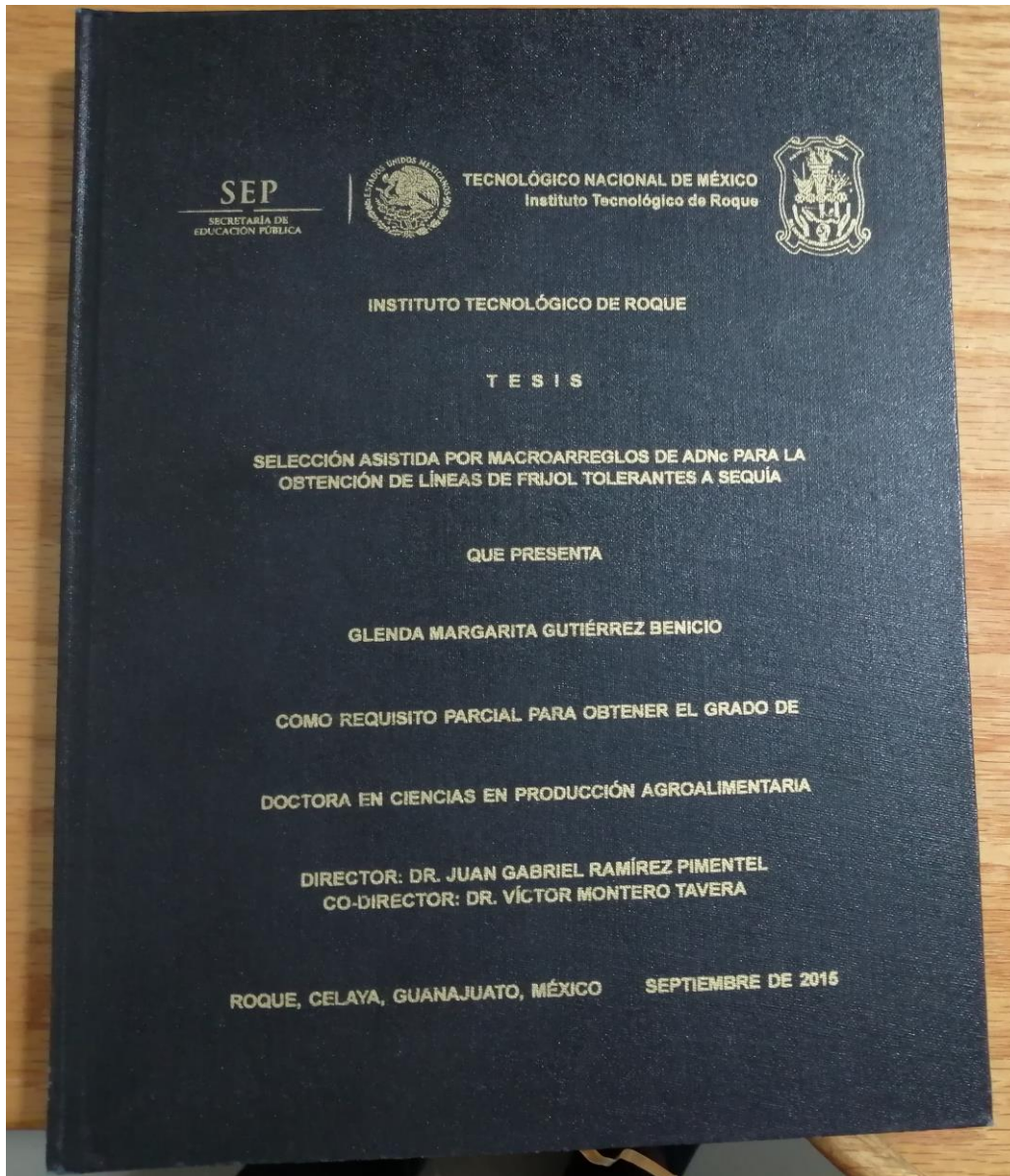
Nombre del egresado	Título de la tesis
Ruiz Nieto Jorge Eric	Factores genéticos asociados al uso eficiente del agua en frijol
Gutiérrez Benicio Glenda Margarita	Selección asistida por macroarreglos de ADNc para la obtención de líneas de frijol tolerantes a sequía
Álvarez Hernández Juan Carlos	Portainjerto y densidad de plantación sobre la sanidad, rendimiento y calidad de frutos de sandía en lotes con nematodos y Fusariumn
Licea de Anda Eva Marcela	Identificación de genes implicados en la tolerancia de <i>Cicer arietinum</i> L. en respuesta a la rabia del garbanzo
Ramírez Novoa Uriel Israel	Caracterización morfológica, genética, bioquímica y evaluación a factores biótico y abiótico en chile piquín (<i>Capsicum annum</i> L. var. <i>Glabriusculum</i>) de Queretaro y Guanajuato
Buenrostro Rodríguez Juan Francisco	Efecto del estrés hídrico sobre caracteres fisiológicos que determinan rendimiento en trigo
Torres Arteaga Iovanna Consuelo	Análisis estructural de dos isoformas de lectina presente en frijol tepari (<i>Phaseolus acutifolius</i>)
Zárate Castrejón José Luis	Identificación de genes con efecto aditivo para la resistencia durable a la roya en trigo
Gutiérrez Tlahque Jorge	Identificación de compuestos bioactivos, actividad antioxidante y antifúngica de sangre de drago (<i>Jatropha dioica</i> Cerv. var. <i>dioica</i>)
López Palestina César Uriel	Caracterización de frutos, encapsulación de pulpa y obtención de un extracto oleoso de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) para la elaboración y aplicación de una película comestible
Pinedo Espinoza José Manuel	Compuestos bioactivos y actividad antioxidante durante la maduración de frutos de xoconostle y tunas
García Rodríguez J. Guadalupe	Estabilidad fenotípica y aptitud combinatoria para caracteres agronómicos, calidad de semilla y forraje en maíz
Lourdes Ledesma Ramirez	Análisis Molecular de la resistencia a Roya amarilla y el rendimiento en genotipos de trigo



PRIMERA GENERACIÓN

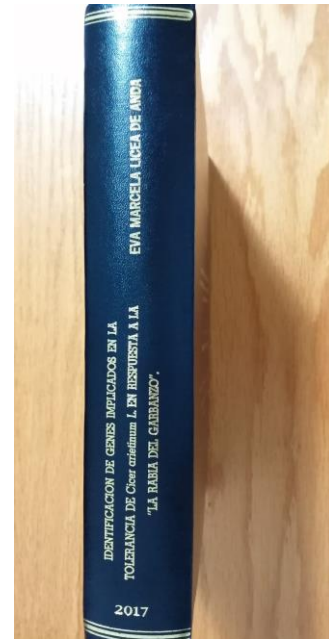
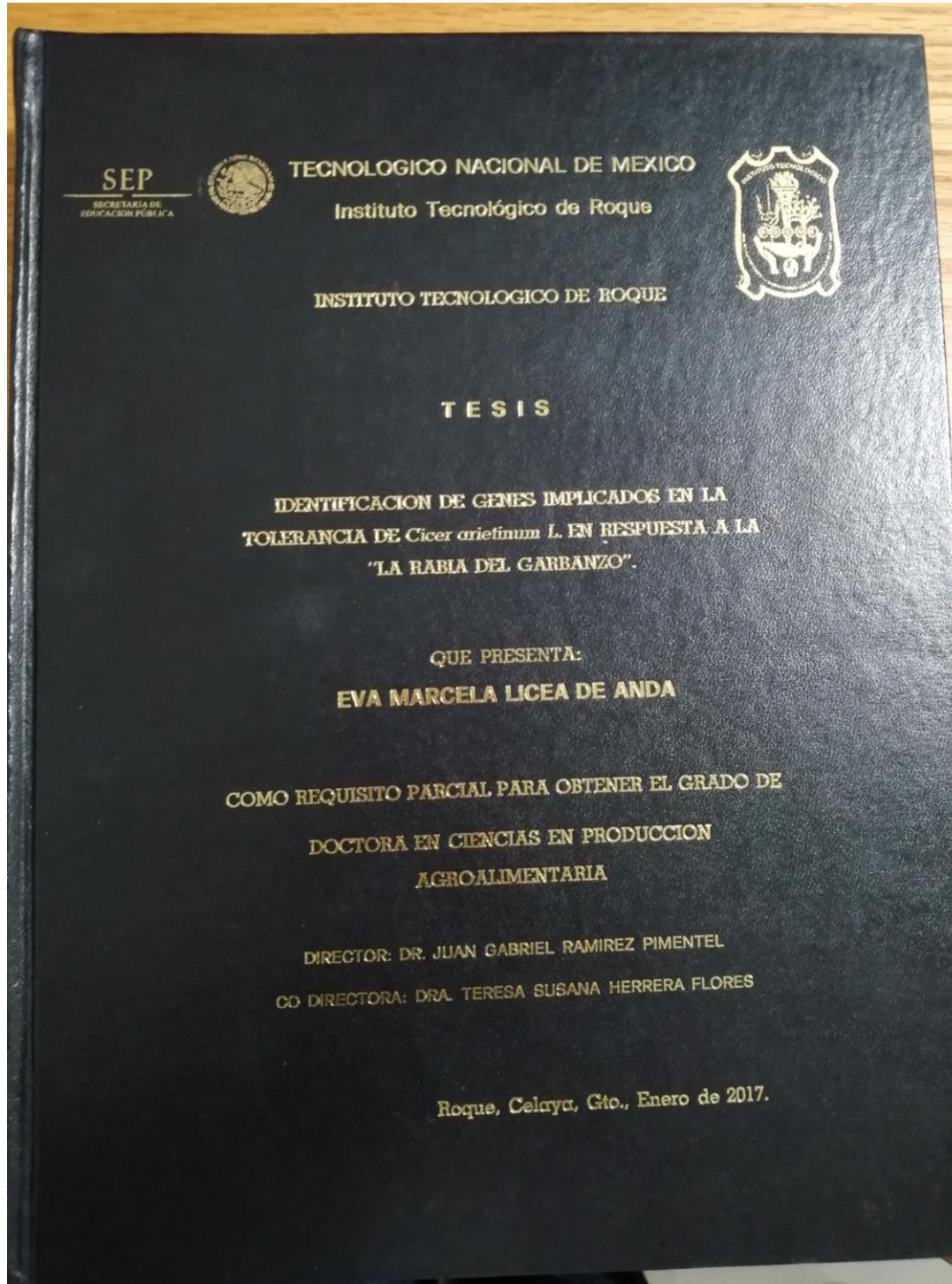




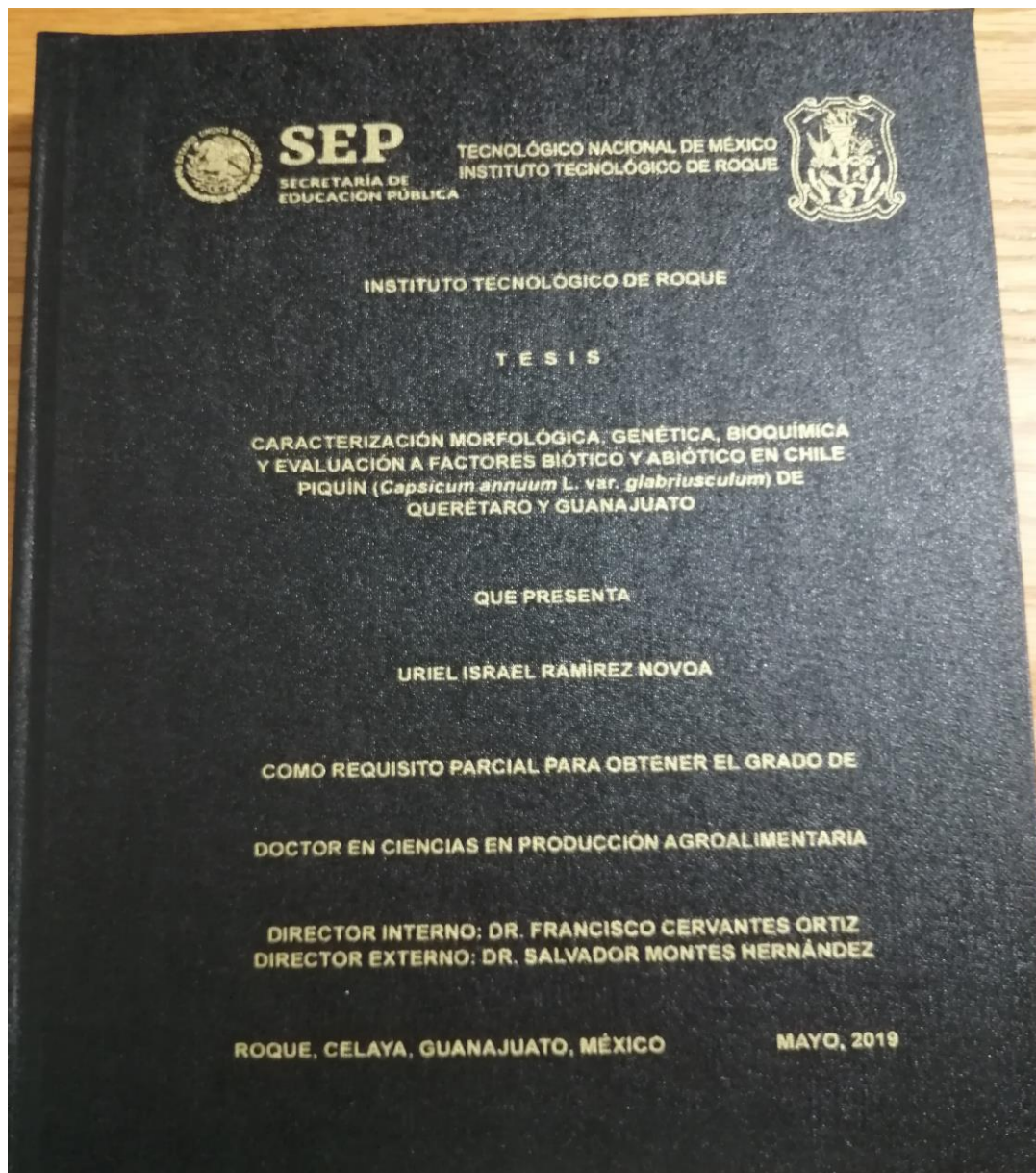




SEGUNDA GENERACIÓN

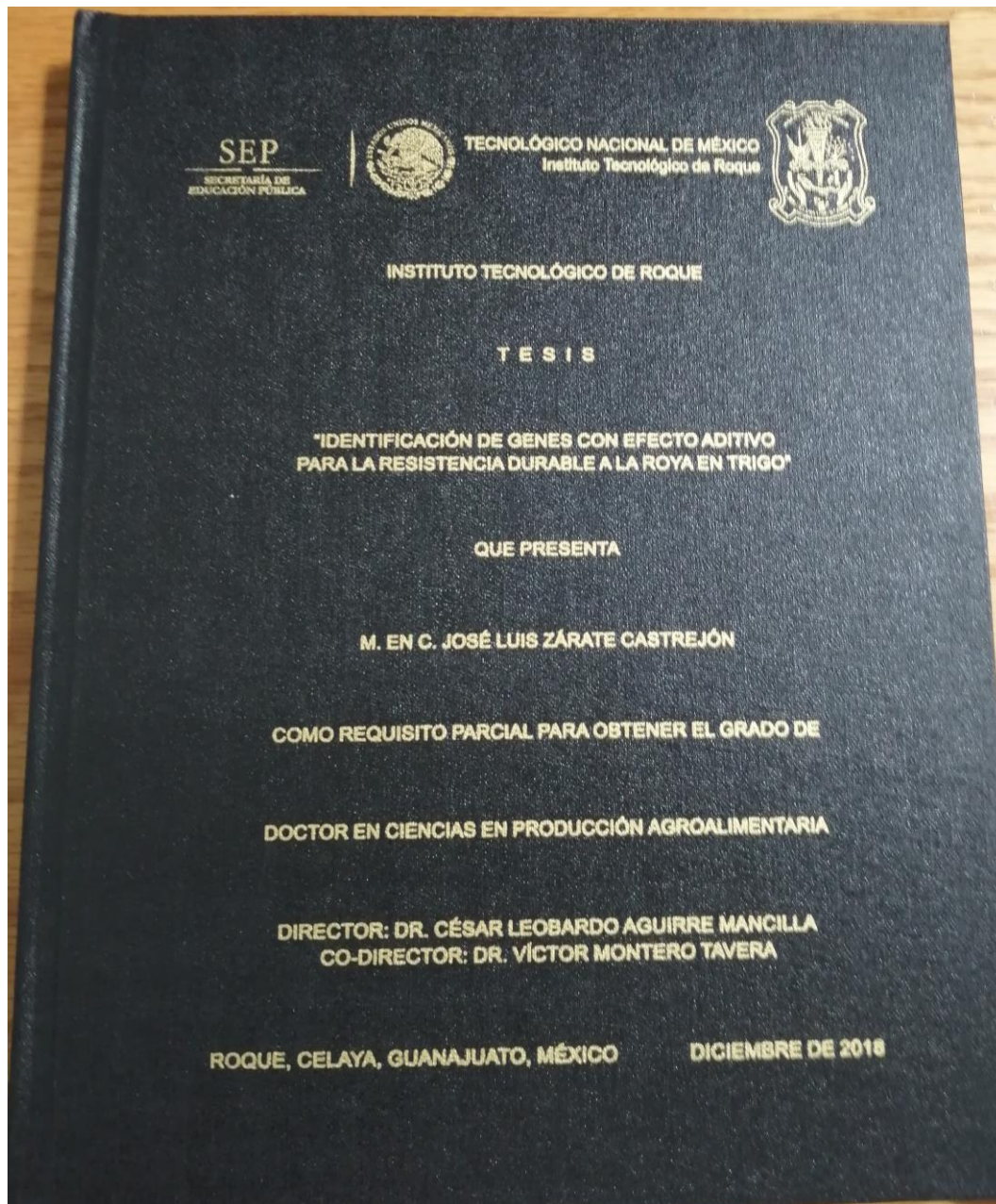


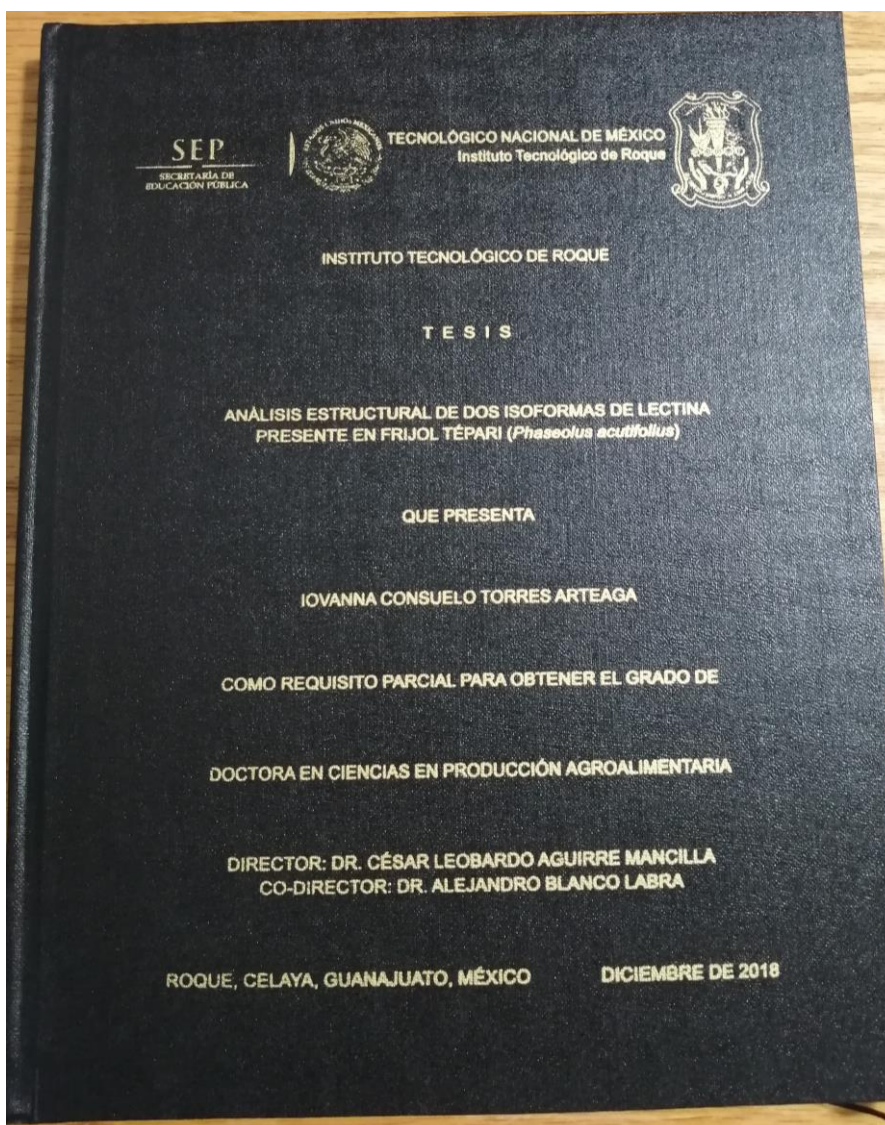
TERCERA GENERACIÓN

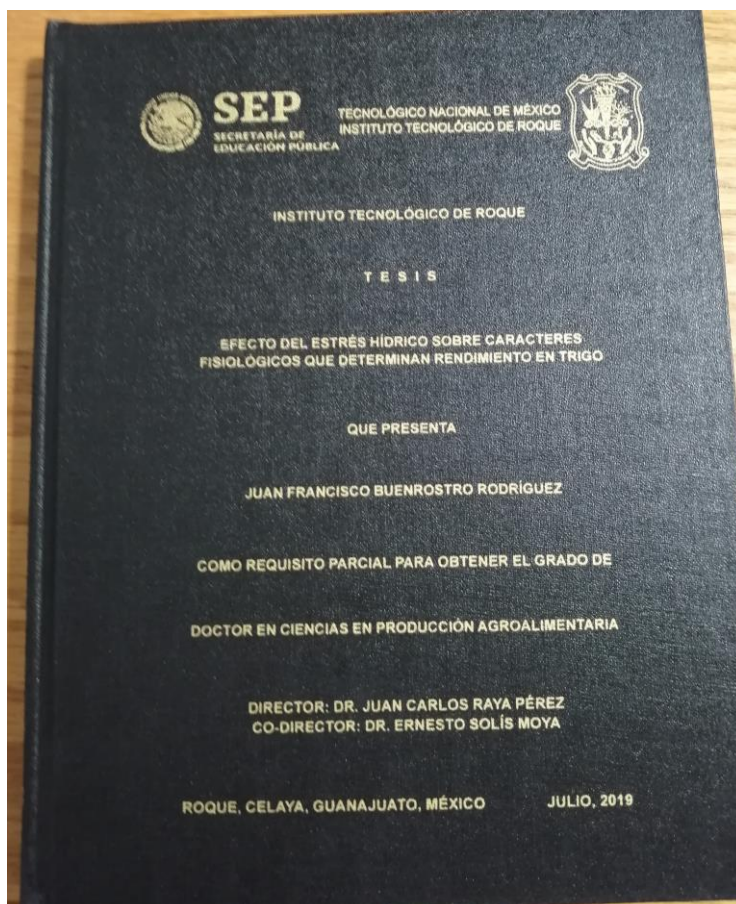




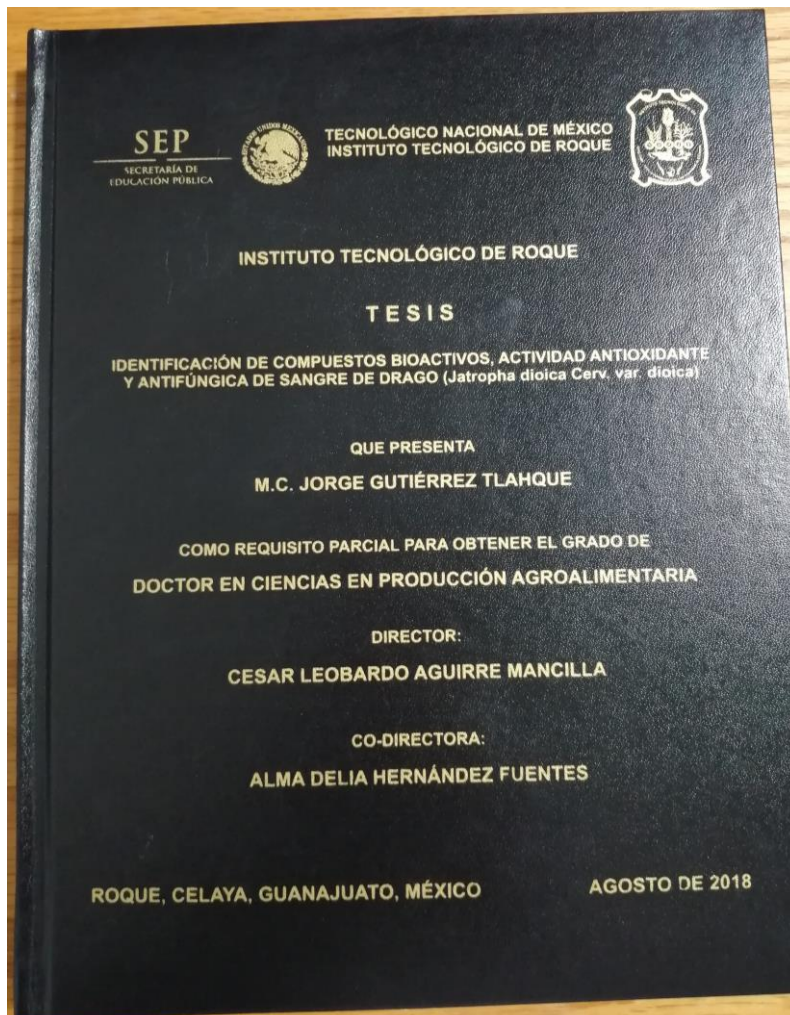
CUARTA GENERACIÓN



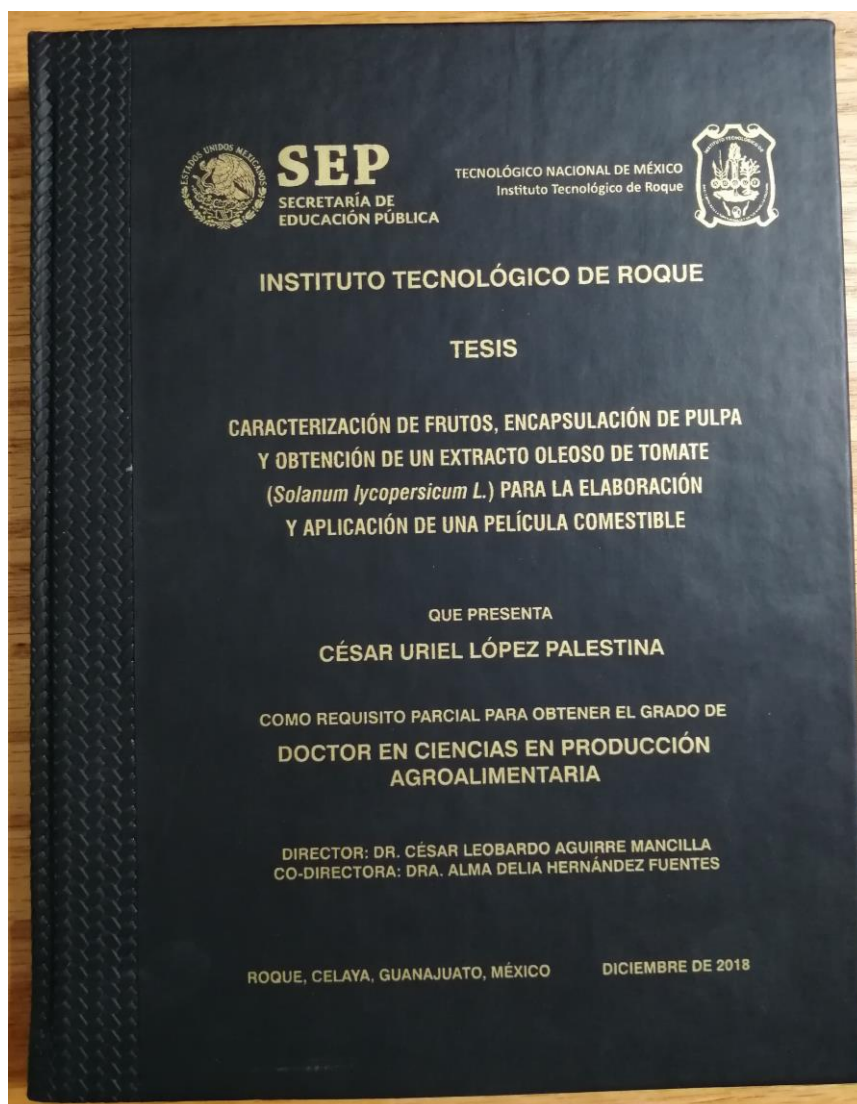


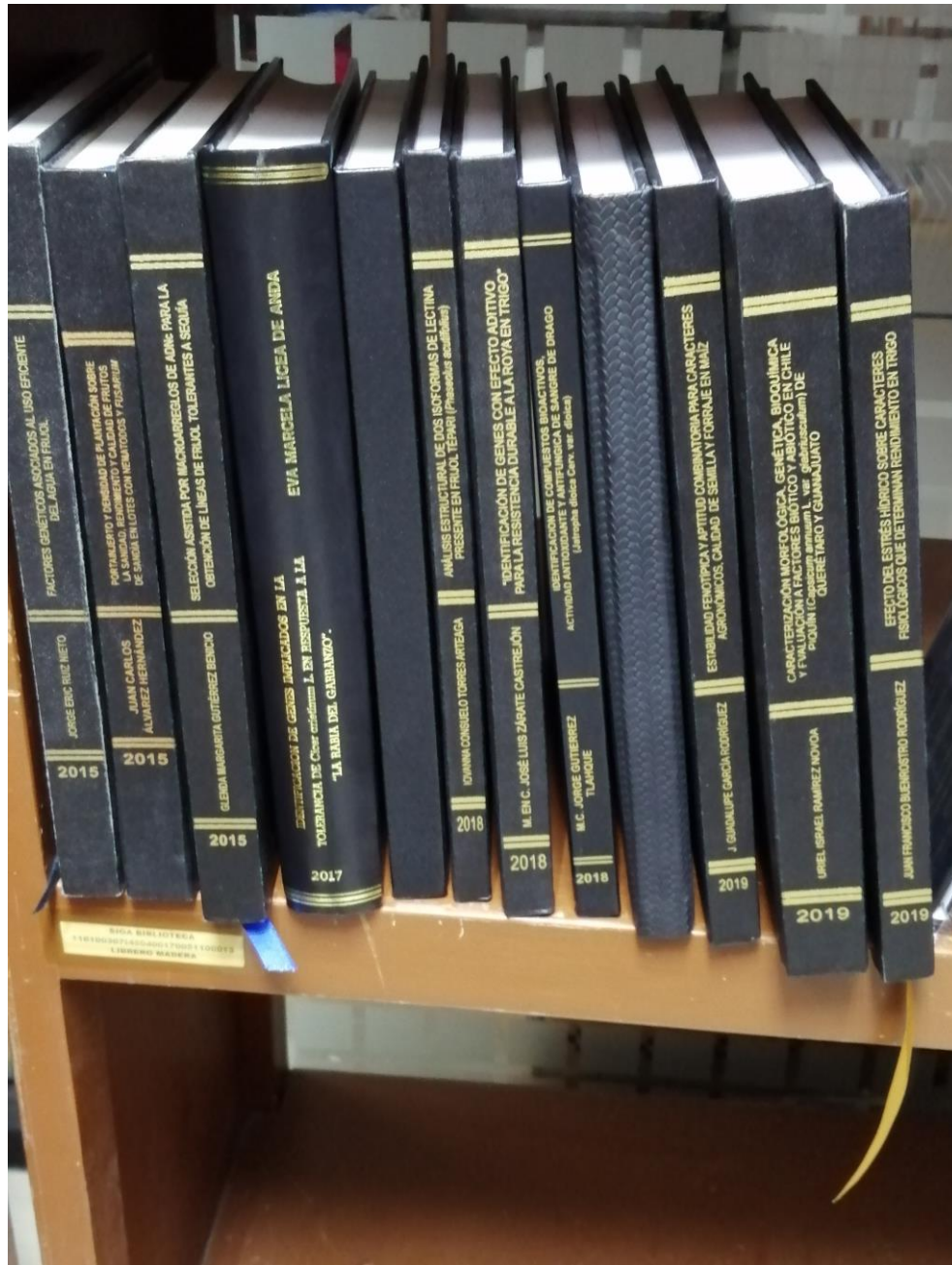


QUINTA GENERACIÓN

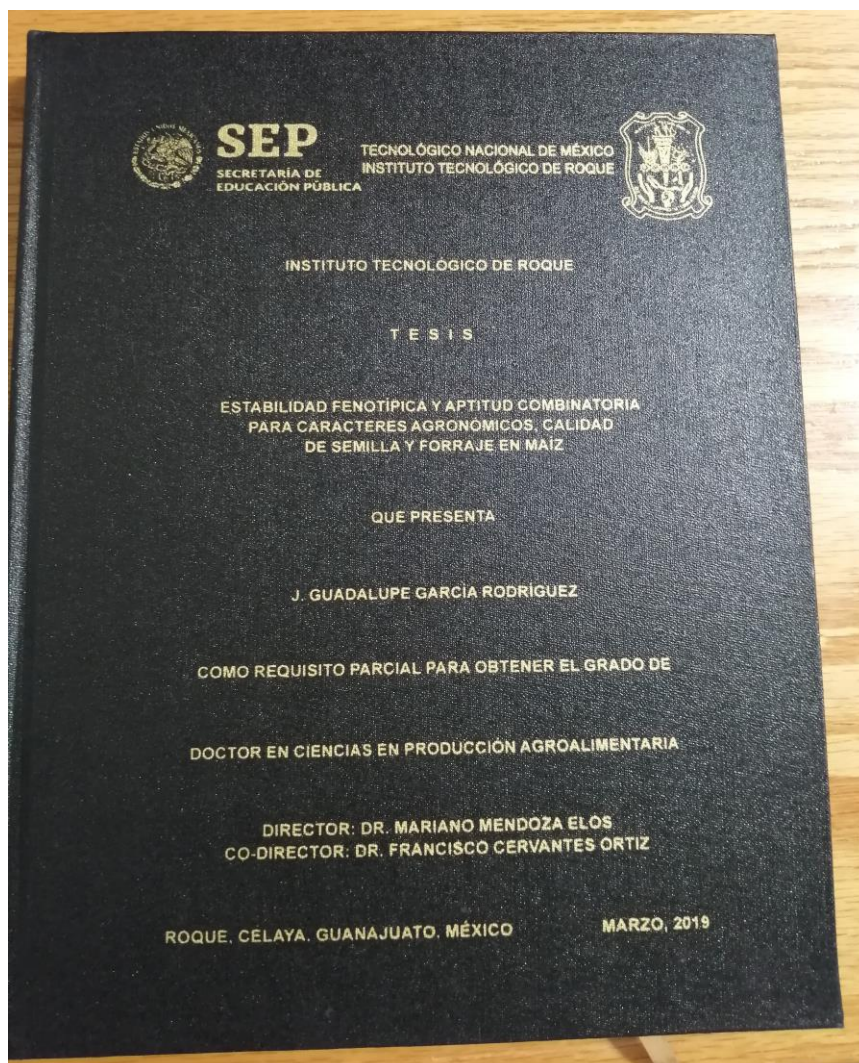


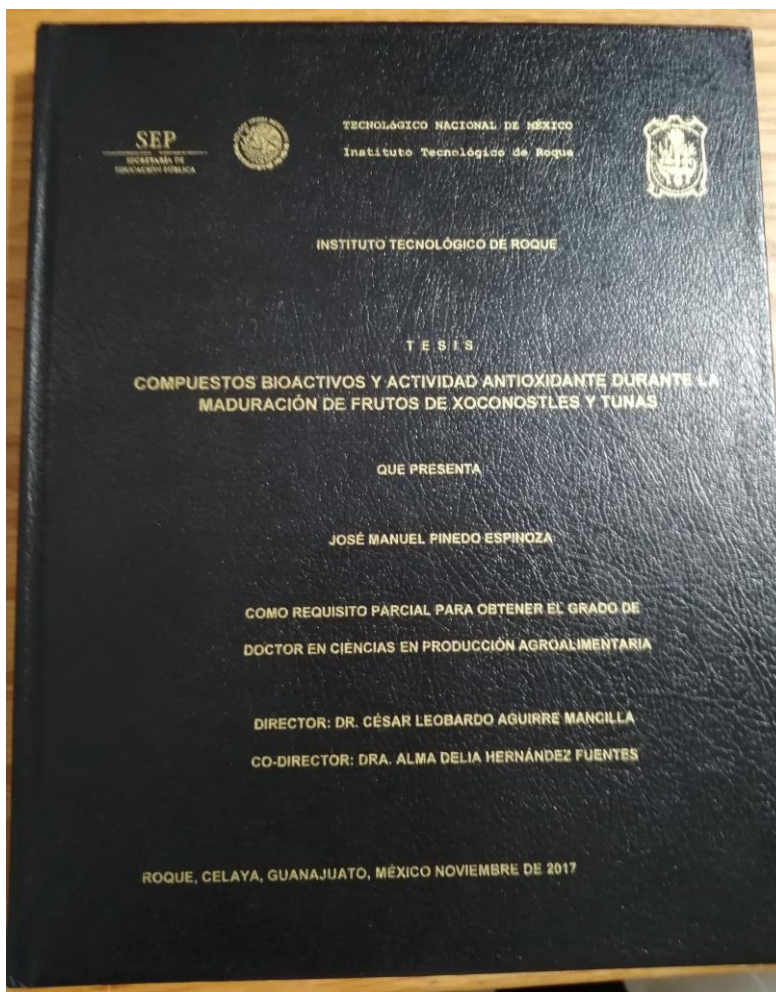
SEXTA GENERACIÓN













TECNOLÓGICO NACIONAL DE
MÉXICO



DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

T E S I S

“Tomate (*Solanum lycopersicum* L.): caracterización de frutos nativos, encapsulación de pulpa y obtención de un extracto oleoso para la elaboración y aplicación de una película comestible”

QUE PRESENTA

César Uriel López Palestina

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

Doctor en Ciencias en Producción Agroalimentaria

Roque, Celaya, Guanajuato, México, diciembre de 2018.

RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es una de las hortalizas más consumidas en el mundo. En México existe una gran reserva genética de *S. lycopersicum*, tanto silvestre como cultivada, que ofrecen oportunidades para ser aprovechado por sus propiedades funcionales y nutraceuticas. Se ha reportado, que estos tomates nativos presentan un alto contenido de licopeno, el β -caroteno, ácido ascórbico y sólidos solubles totales. Sin embargo, aún se desconocen las propiedades funcionales y antioxidantes para su aprovechamiento. Por otra parte, se sabe que el licopeno y el β -caroteno son aparentemente los principales micronutrientes responsables del efecto antioxidante de los tomates, capaces de inhibir el oxígeno singlete y radicales libres.

A pesar del potencial que tiene el licopeno y β -caroteno que se encuentra en los tomates, poco se ha utilizado como ingrediente nutraceutico para la suplementación y/o fortificación de alimentos o como aditivo antioxidante en recubrimientos o películas comestibles. Por ello el objetivo de la presente tesis doctoral fue determinar las características intrínsecas de tres variedades de tomate nativo de México, la encapsulación del jugo de tomate mediante liofilización y la obtención de un extracto oleoso de tomate para su incorporación a una película comestible y evaluar su efecto como recubrimiento comestible para prolongar la vida útil de los frutos.

Para conocer las características nutricionales, fisicoquímicas y funcionales de tomates nativos se estudiaron tres variedades de tomate mexicanas conocidas en el estado de Puebla, México, como 'Ojo de venado', 'Riñón' y 'Cuatomate', utilizando un tomate híbrido comercial (tipo cereza) con alta capacidad antioxidante como control. Los resultados mostraron que las tres variedades locales presentan valores de pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, color y nutrientes, adecuados para ser consumidos en fresco o para ser procesados. Respecto a la actividad antioxidante los tomates 'Riñón' y 'Cuatomate' presentaron la actividad antioxidante *in vitro* más baja y más alta respectivamente de acuerdo con los ensayos DPPH y ABTS. La elevada capacidad antioxidante exhibida por 'Cuatomate' se atribuyó a una alta concentración de compuestos bioactivos tales como β -caroteno (+ 12%), ácido ascórbico (+ 50%) y compuestos fenólicos totales (+ 12%) respecto al control.

Para la encapsulación de la pulpa de tomate (PT) se emplearon diferentes proporciones de maltodextrina (MA) y goma arábiga (GA) como material de pared. Se utilizaron dos relaciones de maltodextrina: goma arábiga (MD: GA 3: 1 y 1: 3) como los materiales de la pared. Se evaluó el efecto de la relación de biopolímeros en el comportamiento encapsulado. Los encapsulados se obtuvieron mediante liofilización. De acuerdo con las características fisicoquímicas de los encapsulados se encontró que presentan buenas propiedades de rehidratación y de color. Los resultados mostraron un incremento máximo de 8.38 y 6.81 veces el contenido de licopeno y β -caroteno respectivamente en comparación con la pulpa de tomate. Mientras que la actividad antioxidante de los encapsulados de tomate aumentó en un máximo de 11.40 veces para el ensayo de DPPH y 11.34 veces para ABTS. Se encontró una retención del licopeno y β -caroteno del 89.92 y 90.23% respectivamente a 40 días de almacenamiento a 4°C, siendo el mejor tratamiento Maltodextrina: Goma Árabiga: Jugo de tomate (3:1:14)

En la elaboración de la película comestible se utilizó aceite de linaza para obtener un extracto oleoso de tomate rico en licopeno y β -caroteno, el cual se incorporó como ingrediente activo a películas de gelatina. Se evaluó el efecto del extracto oleoso de tomate (EOT) a 0, 1, 3 y 5% sobre las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de las películas. En la caracterización del extracto se encontró una concentración de licopeno y β -caroteno de 159.15 y 20.38 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivamente con elevada capacidad antioxidante in vitro de acuerdo con los ensayos de ABTS y DPPH. Los resultados mostraron que la adición del EOT provocó una reducción en el contenido de humedad, menor solubilidad y baja permeabilidad al vapor de agua, mejoraron las propiedades de barrera a la luz UV-visible. Además, se observó que mayor EOT en las películas se presentaba una mayor actividad antioxidante alcanzando un máximo en películas con el 5% de EOT de $2.49 \pm 0.16 \mu\text{M}$ equivalentes de Trolox/g de película.

Además, se evaluó el efecto de de la película comestible como un recubrimiento de gelatina incorporado con 0, 1 y 3% de extracto oleoso de tomate (EOT) comparado con un control (sin recubrimiento) sobre las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de frutos altamente peredeceros como el garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) almacenados durante 0, 5, 10 y 15 días a 5°C. Las variables evaluadas fueron; pérdida de peso, °Bx, pH, acidez titulable, color, betalaínas, ácido ascórbico, fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante por DPPH y ABTS. Se observó que los frutos de garambullo recubiertos de gelatina con EOT al 3 %, presentaron menor pérdida de peso, menor contenido de °Bx, pH y un mayor contenido de

betalaínas, ácido ascórbico, fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante por DPPH Y ABTS. Los resultados revelaron que a mayor concentración de fitoquímicos se presenta una mayor actividad antioxidante *in vitro* encontrando valores máximos de 10.46 y 17.65 mM equivalentes de Trolox por Kg de peso fresco para los ensayos de DPPH y ABTS respectivamente.

Finalmente se encontró que, las tres variedades de tomate nativo locales demostraron poseer un alto potencial como fuente de compuestos antioxidantes. El tratamiento Maltodextrina: Goma Árabiga: Jugo de tomate (3:1:14), en los encapsulados de jugo de tomate con material presentó las mejores propiedades fisicoquímicas y una mayor concentración de licopeno y β -caroteno y elevada capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS^{•+}. La adición del EOT en las películas de gelatina mejoraron las propiedades mecánicas e incrementaron la capacidad antioxidante. En la aplicación de la película como recubrimiento comestible fue el recubrimiento de gelatina con 3% de EOT el mejor tratamiento para conservar las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes en frutos de garambullo.

SUMMARY

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is one of the vegetables most consumed in the world. In Mexico have a large genetic reserve of *S. lycopersicum*, both wild and cultivated, that offer opportunities to be exploited for its functional and nutraceutical properties. It has been reported that native tomatoes have a high content of lycopene, β -carotene, ascorbic acid and total soluble solids. However, the functional and antioxidant properties for its use are still unknown. On the other hand, it is known that lycopene and β -carotene are apparently the main micronutrients responsible for the antioxidant effect of tomatoes, capable of inhibiting singlet oxygen and free radicals. Despite the potential of lycopene and β -carotene found in tomatoes, few has been used as a nutraceutical ingredient for supplementation and / or fortification of foods or as an antioxidant additive in coatings or edible films. Therefore, the objective of this doctoral thesis was to determine the intrinsic characteristics of three tomato varieties native to Mexico, the encapsulation of tomato juice by lyophilization and obtaining an oily extract of tomato for incorporation into an edible film.

To know the nutritional, physicochemical and functional characteristics of native tomatoes, three Mexican tomato varieties known in the state of Puebla, Mexico were studied, such as 'Ojo de venado', 'Riñón' and 'Cuatomate', using a commercial hybrid tomato (type cherry) with high antioxidant capacity as a control. The results showed that the three local varieties present pH values, titratable acidity, total soluble solids, color and nutrients, suitable to be consumed fresh or to be processed. Regarding the antioxidant activity, the 'Riñón' and 'Cuatomate' tomatoes presented the lowest and highest in vitro antioxidant activity, respectively, according to the DPPH and ABTS assays. The high antioxidant capacity exhibited by 'Cuatomate' was attributed to a high concentration of bioactive compounds such as β -carotene (+ 12%), ascorbic acid (+ 50%) and total phenolic compounds (+ 12%) compared to the control.

For encapsulation of the tomato pulp (PT), different proportions of maltodextrin (MA) and gum arabic (GA) were used as wall material. Five treatments were obtained MA-GA-PT, GA-MA-PT, MA-GA, GA-MA and pulp of tomato powder (PT) as a control to a concentration of 30% solids. The encapsulates were obtained by lyophilization. According to the physicochemical characteristics of the encapsulates, they were found to have good rehydration and color properties. The results showed a maximum increase of 8.38 and 6.81

times the content of lycopene and β -carotene respectively compared to tomato pulp. While the antioxidant activity of tomato encapsulates increased by a maximum of 11.40 times for the DPPH assay and 11.34 times for the ABTS. A retention of lycopene and β -carotene of 89.92 and 90.23% respectively was found at 40 days of storage at 4 ° C, being the best treatment MA-GA-PT.

For the preparation of the edible film, flaxseed oil was used to obtain an oily tomato extract rich in lycopene and β -carotene, which was incorporated as an active ingredient in gelatin films. The effect of the oily tomato extract (EOT) at 0, 1, 3 and 5% on the physicochemical and antioxidant properties of the films was evaluated. In the characterization of the extract a concentration of lycopene and β -carotene of 159.15 and 20.38 $\mu\text{g} / \text{mL}$ respectively with high antioxidant capacity in vitro was found according to the ABTS and DPPH assays. The results showed that the addition of the EOT caused a reduction in the moisture content, lower solubility and low permeability to water vapor, improved the properties of UV-visible light barrier. In addition, it was observed that higher EOT in the films showed a higher antioxidant activity reaching a maximum in films with 5% EOT of $2.49 \pm 0.16 \mu\text{M}$ equivalent of Trolox / g film.

Finally, it was found that the three local varieties of native tomato showed a high potential as a source of antioxidant compounds. The tomato juice encapsulates with MA-GA wall material presented better physicochemical properties and a higher concentration of lycopene and β -carotene and high antioxidant capacity against the DPPH and ABTS • + radicals. The addition of EOT in gelatin films can improve the mechanical properties and increase the antioxidant capacity which could be very useful in the minimally processed products industry.

In addition, the effect of the edible film as a gelatin coating incorporated with 0, 1 and 3% tomato oil extract (EOT) compared to a control (without coating) on the physicochemical and antioxidant properties of highly mature fruits was evaluated. as the garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) stored during 0, 5, 10 and 15 days at 5 ° C. The variables evaluated were; weight loss, ° Bx, pH, titratable acidity, color, betalains, ascorbic acid, total phenols, flavonoids and antioxidant activity by DPPH and ABTS. It was observed that the fruits of garabullo coated with gelatin with 3% EOT, presented less weight loss, lower Bx content, pH and a higher content of betalains, ascorbic acid, total phenols, flavonoids and antioxidant activity by DPPH and ABTS. The results revealed that a higher concentration of

phytochemicals presents a higher antioxidant activity in vitro, finding maximum values of 10.46 and 17.65 mM equivalent of Trolox per Kg of fresh weight for the DPPH and ABTS assays respectively.

Finally, it was found that the three local varieties of native tomato showed a high potential as a source of antioxidant compounds. The treatment Maltodextrin: gum arabic: Tomato juice (3: 1: 14), in the encapsulated tomato juice with material presented the best physicochemical properties and a higher concentration of lycopene and β -carotene and high antioxidant capacity against radical's DPPH and ABTS^{•+}. The addition of EOT in the gelatin films improved the mechanical properties and increased the antioxidant capacity. In the application of the film as edible coating was the coating of gelatin with 3% EOT the best treatment to preserve the physicochemical and antioxidant properties of fruits of garambullo.



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Roque



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ROQUE

T E S I S

**SELECCIÓN ASISTIDA POR MACROARREGLOS DE ADNc PARA LA OBTENCIÓN DE
LÍNEAS DE FRIJOL TOLERANTES A SEQUÍA**

QUE PRESENTA

GLENDA MARGARITA GUTIÉRREZ BENICIO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA

ROQUE, CELAYA, GUANAJUATO, MÉXICO

SEPTIEMBRE DE 2015

RESUMEN

Los marcadores funcionales forman parte de las herramientas que aplica la biotecnología agrícola, son genes con potencial para ser desarrollados en diversas aplicaciones como los macroarreglos de ADN que permiten identificar y distinguir variedades vegetales sobresalientes en respuesta a un estímulo. Los objetivos del presente trabajo fueron determinar perfiles de expresión de genes asociados a la respuesta de sequía en cuatro variedades de frijol, Pinto Saltillo, Pinto Villa como tolerantes, y susceptibles Bayo Madero y Canario 60, una vez identificada la expresión génica desarrollar arreglos de ADNc para la construcción de un macroarreglo como una herramienta útil para seleccionar genotipos de frijol sobresalientes al estrés hídrico, y finalmente caracterizar la respuesta de sequía ante otros tipos de estrés. Los cuatro materiales de frijol se sometieron a sequía en la etapa vegetativa V4 y reproductiva en el inicio de floración. Para identificar los patrones de expresión se analizaron 48 genes por RT-PCR usando iniciadores diseñados a partir de ESTs del GenBank (NCBI) para *P. vulgaris* y de bibliotecas sustractivas supresivas para Pinto Saltillo, de este análisis se identificó la inducción de la expresión para 21 genes identificados principalmente en las variedades tolerantes, posteriormente esta transcripción fue sustentada por arreglos de ADNc y por PCR tiempo real. El macroarreglo se validó con 4 genes de los 21 inducidos en su expresión. Los resultados de la validación mostraron la identificación de diversos materiales de frijol con potencial al estrés por sequía, por lo que el macroarreglo obtenido en el presente trabajo se suma a la lista de las diversas herramientas biotecnológicas con la finalidad de identificar genotipos de frijol sobresalientes al déficit hídrico. En el estrés abiótico se identificó expresión de 10 genes de respuesta a sequía, siendo mayor en la variedad Pinto Saltillo que en Bayo Madero. Los resultados de este estrés aplicado correlacionan las respuestas que tienen las plantas de frijol ante la falta de agua, la deshidratación o la disponibilidad hídrica.

SUMMARY

Functional markers are part of the tools applied by agricultural biotechnology, they are genes with potential to be developed in various applications such as DNA microarrays that allow identifying and distinguishing outstanding plant varieties in response to a stimulus. The objectives of the present work were to determine gene expression profiles associated with the drought response in four bean varieties, Pinto Saltillo, Pinto Villa as tolerant, and susceptible Bayo Madero and Canario 60; once the gene expression was identified, develop cDNA arrangements for the construction of a macro arrangement as a useful tool to select bean genotypes outstanding to water stress, and finally characterize the drought response to other types of stress. The four bean materials underwent drought in the vegetative stage V4 and reproductive at the beginning of flowering. To identify the expression patterns, 48 genes were analyzed by RT-PCR using primers designed from GenBank ESTs (NCBI) for *P. vulgaris* and suppressive subtractive libraries for Pinto Saltillo, from this analysis the induction of the expression was identified for 21 genes identified mainly in tolerant varieties; later, this transcription was supported by cDNA arrangements and real-time PCR. The macroarray was validated with 4 of the 21 genes induced in its expression. The results of the validation showed the identification of various bean materials with potential for drought stress, so the macroarray obtained in the present work adds to the list of the various biotechnological tools in order to identify outstanding bean genotypes. Water deficit In abiotic stress, expression of 10 drought response genes was identified, being higher in the Pinto Saltillo variety than in Bayo Madero. The results of this applied stress correlate the responses that bean plants have to lack of water, dehydration or water availability.



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Roque

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ROQUE

TESIS

**ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE DOS ISOFORMAS DE LECTINA PRESENTE EN
FRIJOL TÉPARI (*Phaseolus acutifolius*). L**

QUE PRESENTA

IOVANNA CONSUELO TORRES ARTEAGA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA

ROQUE, CELAYA, GUANAJUATO, MÉXICO

DICIEMBRE DE 2018

RESUMEN

Las interacciones moleculares basadas en el reconocimiento específico cumplen un papel esencial en múltiples procesos biológicos. Los carbohidratos son considerados las moléculas con el mayor potencial de almacenamiento de información, gracias a la diversidad de estructuras ramificadas, superior al de las proteínas, ácidos nucleicos y otras macromoléculas.

Adicionalmente los carbohidratos tienen una amplia distribución en los organismos. Se les puede encontrar en forma libre o unidos covalentemente con otras macromoléculas, esto es en glicoconjugados, tales como las glicoproteínas.

Las lectinas son un grupo de glicoproteínas altamente diverso de origen no inmune que contiene al menos un dominio no catalítico que le brinda la capacidad de reconocer selectivamente y unirse reversiblemente a carbohidratos libres o presentes en otros glicoconjugados. Por ello se encuentran involucradas en numerosos procesos intercelulares e intracelulares, lo mismo fisiológicos que patológicos.

Uno de los objetivos primordiales de la glicobiología radica en el entendimiento de las interacciones proteína-carbohidrato en sistemas biológicos.

En el presente investigación nos enfocamos en el estudio de dos lectinas presentes en semillas de *Phaseolus acutifolius*, tanto a nivel proteínico como a nivel de su glicosilación. Se encontró que ambas isoformas presentan un solo sitio de N-glicosilado en la asparagina 34. Las glicosilaciones para ambas isoformas están constituidas por glicanos de alta manosa, siendo manosa 6 la más abundante. Se obtuvo la estructura in silico de la lectina donde se pudo identificar el sitio de glicosilación, el sitio de unión a metales y el sitio de reconocimiento a carbohidratos. Las isoformas mostraron diferencias en su contenido de cationes metálicos necesarios para conservar la actividad biológica.

SUMMARY

Molecular interactions based on specific recognition play an essential role in multiple biological processes. Carbohydrates are considered the molecules with the greatest potential for information storage, thanks to the diversity of branched structures, superior to that of proteins, nucleic acids and other macromolecules.

Additionally, carbohydrates have a wide distribution in organisms. They can be found in free form or covalently linked with other macromolecules, that is in glycoconjugates, such as glycoproteins.

Lectins are a group of highly diverse glycoproteins of non-immune origin that contain at least one non-catalytic domain that gives it the ability to selectively recognize and reversibly bind free carbohydrates or present in other glycoconjugates. Therefore they are involved in numerous intercellular and intracellular processes, the same physiological as pathological.

One of the primary objectives of glycobiology lies in the understanding of protein-carbohydrate interactions in biological systems.

In the present investigation we focus on the study of two lectins present in *Phaseolus acutifolius* seeds, both at the protein level and at the level of their glycosylation. It was found that both isoforms have a single N-glycosylated site in asparagine 34. The glycosylations for both isoforms are made up of high mannose glycans, with mannose 6 being the most abundant. In silico structure of the lectin was obtained where the glycosylation site, the metal binding site and the carbohydrate recognition site could be identified. The isoforms showed differences in their content of metal cations necessary to conserve biological activity.



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Roque



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ROQUE

T E S I S

**IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE
Y ANTIFÚNGICA DE SANGRE DE DRAGO (*Jatropha dioica* var. *dioica*)**

QUE PRESENTA

M.C. JORGE GUTIÉRREZ TLAHQUE

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA

ROQUE, CELAYA, GUANAJUATO, MÉXICO

MAYO DE 2018

IV. RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad antioxidante, el contenido total de fenoles y flavonoides en raíces y tallos de *Jatropha dioica*, y su relación con la temporada de recolección, la ubicación de recolección, el solvente de extracción y sus interacciones, con el fin conocer el efecto de las condiciones climáticas sobre la síntesis de compuestos antioxidantes en *J. dioica*. Así como determinar la actividad antioxidante, antifúngica y los compuestos presentes en los extractos no polares de tallo y raíz de *J. dioica*. El material vegetal fue colectado durante la época de lluvias y sequía en Morelos, Zacatecas y Tetepango, Hidalgo. Se utilizó un diseño experimental 3 factorial donde los factores que se analizaron fueron solvente de extracción, lugar de recolección y época de colecta en tallos y raíces de *J. dioica*. Adicional a lo anterior se estableció un segundo diseño experimental completamente al azar donde las fuentes de variación fueron parte de la planta y solvente de extracción, con el fin evaluar la actividad antifúngica y antioxidante de los extractos de tallo y raíz de *J. dioica*, además de identificar los compuestos bioactivos que le confieren dicha actividad biológica. Los resultados indican que hay una diferencia estadísticamente significativa cuando se comparan por separado las tres fuentes de variación (lugar de colecta, época de colecta y solvente de extracción), para el contenido total de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en tallos y raíces. Respecto a las interacciones en los tallos, hubo una diferencia estadísticamente significativa entre Morelos × 70% de etanol × sequía y Tetepango × agua × lluvia para el contenido fenólico total y para la actividad de eliminación de radicales libres; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas para el contenido total de flavonoides. Respecto a las raíces, se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las 4 variables analizadas. Los extractos no polares mostraron actividad antioxidante importante en la captura de radicales libres y moderada inhibición de los hongos. Mientras el estudio fitoquímico de dichos extractos conduce al aislamiento de ésteres alquílicos de acetato (1 y 2) y ferúlicos (3 y 4), así como los diterpenos citlallitrona (5), jatrophatrione (6), jatropolona A (7), y jatropolona B (8), los cuales podrían ser responsables de la actividad antioxidante y

antifungicidas observadas por los extractos. Los resultados indican que hay un efecto de la ubicación de la colección, la temporada de recolección y el solvente de extracción en el contenido fenólico total, y en la actividad antioxidante. Además, los rizomas presentaron una mayor actividad antioxidante y contenido fenólico total en extractos polares y no polares. .

V. SUMMARY

The objective of the present work was to determine the antioxidant activity, the total content of phenols and flavonoids in roots and stems of *Jatropha dioica*, and their relationship with the harvest season, the location of collection, the extraction solvent and their interactions, with the To know the effect of climatic conditions on the synthesis of antioxidant compounds in *J. dioica*. As well as to determine the antioxidant, antifungal activity and the compounds present in the non polar extracts of stem and root of *J. dioica*. The plant material was collected during the rainy season and drought in Morelos, Zacatecas and Tetepango, Hidalgo. An experimental 3 factorial design was used where the factors that were analyzed were extraction solvent, place of collection and time of collection in stems and roots of *J. dioica*. In addition to the above, a second completely randomized experimental design was established where the sources of variation were part of the plant and extraction solvent, in order to evaluate the antifungal and antioxidant activity of stem and root extracts of *J. dioica*, in addition to identify the bioactive compounds that confer such biological activity. The results indicate that there is a statistically significant difference when comparing separately the three sources of variation (collection site, collection season and extraction solvent), for the total content of phenolic compounds and the antioxidant activity in stems and roots. Regarding the interactions in the stems, there was a statistically significant difference between Morelos × 70% ethanol × drought and Tetepango × water × rainfall for the total phenolic content and for the activity of elimination of free radicals; however, no significant differences were found for the total flavonoid content. Regarding the roots, a statistically significant difference was found between the 4 variables analyzed. The non-polar extracts showed important antioxidant activity in the capture of free radicals and moderate inhibition of fungi. While the phytochemical study of these extracts leads to the isolation of alkyl esters of acetate (1 and 2) and ferulics (3 and 4), as well as the diterpenes citlaltirione (5), jatrophatrione (6), jatropolona A (7), and jatropolona B (8), which could be responsible for the antioxidant activity and antifungicides observed by the extracts. The results indicate that there is an effect of the location of the collection, the

collection season and the extraction solvent on the total phenolic content, and on the antioxidant activity. In addition, the rhizomes showed a higher antioxidant activity and total phenolic content in polar and non-polar extracts..



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Roque



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ROQUE

T E S I S

**IDENTIFICACIÓN DE GENES CON EFECTO ADITIVO PARA LA RESISTENCIA
DURABLE A LA ROYA EN TRIGO**

QUEPRESENTA

JOSÉ LUIS ZÁRATE CASTREJÓN

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA

ROQUE, CELAYA, GUANAJUATO, MÉXICO JUNIO DE 2018

RESUMEN

La roya lineal es ocasionada por el hongo *Puccinia striiformis* y es una de las enfermedades más importantes en el trigo. Ante este panorama se ha tratado de enfrentar el problema con la generación de materiales resistentes por medio del mejoramiento genético tradicional, pero debido al alto costo y el tiempo empleado en la generación de nuevas variedades es necesario buscar materiales resistentes con otra estrategia. Las herramientas empleadas por la Biología Molecular son una alternativa para localizar los genes que responden ante la presencia del fitopatógeno. Con la generación de una biblioteca sustractiva supresiva (BSS) se sustrajeron genes expresados diferencialmente en presencia de la roya lineal. Se empleó una línea avanzada resistente a la roya lineal (V-26) proporcionada por el Programa Nacional de Trigo del INIFAP C.E. Bajío. La BSS se generó con el Kit comercial PCR Select cDNA Substraction de Clontech®, los transcritos expresados diferencialmente se aislaron, clonaron y secuenciaron. Se realizó el análisis bioinformático usando el BLAST para conocer la función de los genes encontrados. Se encontraron 48 genes diferentes y de cada uno se diseñaron los iniciadores específicos. Los resultados de RT-PCR indicaron que los genotipos resistentes presentaron más genes sobre-expresados que en los genotipos susceptibles. La línea 143 presentó la sobreexpresión del mayor número genes relacionados con la resistencia, mientras que la línea 16 mostró el menor número de genes sobreexpresados. El análisis densitométrico permitió la discriminación de los genes expresados de manera diferencial. Los avances confirman que los genes obtenidos pueden ser considerados como marcadores moleculares.

Palabras clave: Biblioteca sustractiva supresiva, genes de efecto menor, perfiles de expresión, qPCR.

SUMMARY

Linear rust is caused by the fungus *Puccinia striiformis* and is one of the most important diseases in wheat. Given this scenario, we have tried to deal with the problem with the generation of resistant materials through traditional genetic improvement, but due to the high cost and time spent in the generation of new varieties, it is necessary to look for resistant materials with another strategy. The tools used by Molecular Biology are an alternative to locate the genes that respond to the presence of the phytopathogen. With the generation of a suppressive subtractive library (BSS) differentially expressed genes were subtracted in the presence of linear rust. An advanced linear rust resistant line (V-26) provided by the National Wheat Program of INIFAP C.E. Shallows. The BSS was generated with the Clontech® Commercial PCR Select cDNA Subtraction Kit, differentially expressed transcripts were isolated, cloned and sequenced. The bioinformatic analysis was performed using BLAST to know the function of the genes found. 48 different genes were found and of each the specific primers were designed. The results of RT-PCR indicated that resistant genotypes presented more overexpressed genes than in susceptible genotypes. Line 143 had the highest expression of resistance-related genes, while line 16 presented the one less expression of all genes. Densitometric analysis allowed discrimination of differentially expressed genes. Advances confirm that the genes obtained can be considered as molecular markers.

Keywords: Suppressive subtractive library, minor effect genes, expression profiles, qPCR.



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Roque



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ROQUE

T E S I S

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, GENÉTICA, BIOQUÍMICA Y EVALUACIÓN A FACTORES BIÓTICO Y ABIÓTICO EN CHILE PIQUÍN (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum*) DE QUERÉTARO Y GUANAJUATO

QUE PRESENTA

URIEL ISRAEL RAMIREZ NOVOA

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA

ROQUE, CELAYA, GUANAJUATO, MÉXICO.

MARZO, 2019

RESUMEN

El cultivo del chile (*Capsicum* spp.) es importante en la historia, tradición y cultura de México, ya que a lo largo del tiempo, ha sido uno de los principales cultivos usados como alimento, y es, además, un producto con alta demanda mundial, que genera ingresos económicos importantes. Actualmente, el chile piquín silvestre (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser y Pickersgill) es muy apreciado por su sabor, como condimento de la comida mexicana, pero aún se desconoce las propiedades bioquímicas del fruto de la región de estudio, por lo que es de interés científico, social, agronómico y económico su conocimiento. El objetivo de la investigación fue caracterizar morfológicamente al chile piquín silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) de Querétaro y Guanajuato, además evaluar su tolerancia a factores biótico y abióticos, determinar las propiedades bioquímicas del fruto y cuantificar su diversidad y estructura genética. Para cumplir lo anterior, se plantearon una serie de experimentos: 1) caracterización morfológica y genética de la diversidad, 2) tolerancia a factores biótico y abiótico y 3) prueba química de cromatografía de placa fina (TLC thin-layer chromatography). En la primera parte de la investigación, el objetivo fue analizar la variabilidad morfológica de 11 poblaciones de chile piquín silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) de la Sierra Gorda y Semidesierto de Querétaro (Municipios de Arroyo Seco, Jalpan de Serra, Tolimán y Cadereyta de Montes) y Guanajuato (Municipio de Xichú). La caracterización se realizó bajo condiciones de invernadero en el Instituto Tecnológico de Roque (ITR). Se registraron 44 caracteres en plántula, planta, floración, madurez de fruto y semilla. El análisis de Componentes Principales (CP), mostró que los tres primeros componentes explicaron el 56.6 % de la variabilidad morfológica total. El CP1 fue explicado por las características de peso (0.326), ancho (0.301) y longitud de fruto (0.271); densidad de hoja (0.277) y diámetro de semilla (0.297). En el CP2 las variables que más contribuyeron para la expresión de la variación fueron el ancho (0.329) y pubescencia de hoja (0.317) y finalmente, en el CP3 la forma del fruto (0.344) y color de las anteras (-0.308) fueron los caracteres más importantes. Por otro lado, el análisis de conglomerados generó cuatro grupos; el grupo I incluyó las poblaciones G3 (Rosa de Castilla), G2 (Palmitas El Tanque), G1 (El Tanque), todas de la Sierra Gorda en Guanajuato. El grupo II, se conformó de la población Q7 (El Patol, Querétaro). El grupo III, lo constituyó la población Q5 (Presa Jalpan, Querétaro) y finalmente, el grupo IV se integró por seis poblaciones; Q4 (San Antonio Tancoyol), Q8 (Higuerillas arroyo), Q6 (Higuerillas El Shote), Q2 (El Refugio solar-huerta), Q3 (Tancoyol carr. a Tancoyol) y Q1 (El Refugio El Chilar), todas del Estado de Querétaro. La diversidad morfológica encontrada en esta especie nos refiere que debe conservarse esta planta nativa y que puede integrarse fácilmente en un programa de aprovechamiento sustentable de la flora de la región. Por otro lado, se realizó la descripción de la diversidad y estructura genética de *C. annuum* var. *glabriusculum* (piquín). Para esto se recopilaron muestras de *C. annuum*, se optimizaron marcadores neutrales de los cuales se seleccionaron cinco, la colección de muestras generadas con lo que posteriormente se calculó la

diversidad genética y se observó su estructura. Los resultados sugieren que las poblaciones muestreadas son genéticamente homogéneas, aunque con algo de diversidad; y donde el análisis de F_{st} y PCA sugieren que hay poca diferenciación entre las poblaciones, confirmando lo observado con la distribución de frecuencias alélicas. Otro de los ensayos fue evaluar la susceptibilidad de las poblaciones de Chile en plantas de Chile piquín silvestre (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) a el hongo *Phytophthora capsici* en 11 poblaciones de la Sierra Gorda de Querétaro y Guanajuato. La evaluación se realizó bajo condiciones de invernadero en el Instituto Tecnológico de Roque (ITR). Las plantas se sembraron en bolsas plásticas con suelo agrícola común y se ubicaron dentro de un invernadero dándole las condiciones agronómicas adecuadas. Para cada una de las 11 poblaciones se tomaron 5 plantas: 4 repeticiones y 1 testigo; se aplicaron 100,000 zoosporas a cada planta inoculada, las plantas se inocularon en la raíz y se observaron durante 22 semanas. Los resultados obtenidos fueron para incidencia, un promedio del 90.9 % de plantas afectadas por *Phytophthora capsici*; para la susceptibilidad la mayoría presentó muy alta susceptibilidad y solamente la población G1 presentó muy baja susceptibilidad, por lo que la hace muy interesante para posteriores estudios. El tamaño de raíz después de la afectación del hongo la mayoría de las poblaciones presentaron un crecimiento en promedio a la mitad de la del tamaño del testigo, con excepción de Q8 y G1 que estuvieron muy cerca del tamaño del testigo; y para la altura de tallo todas las poblaciones estuvieron por debajo de sus respectivos testigos, solamente la población G3 presentó un promedio en crecimiento cercano al testigo. Por lo anterior, las poblaciones de Guanajuato (G1 y G3) destacaron en estas evaluaciones, por lo que se pueden considerar como materiales interesantes para el mejoramiento genético. El tercer ensayo tuvo como objetivo evaluar la tolerancia al déficit hídrico en plantas de Chile piquín silvestre (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) de 10 poblaciones de la Sierra Gorda de Querétaro y Guanajuato. La evaluación se realizó bajo condiciones de invernadero. Las plantas se sembraron en bolsas plásticas con suelo agrícola común y se ubicaron dentro de un invernadero dándole las condiciones agronómicas adecuadas. Se evaluaron 4 calendarios de riego (incluyendo al testigo) en cada una de las 10 poblaciones, en donde para cada población se tomaron 11 plantas: 3 plantas para cada calendario y 2 plantas de testigo; donde se aplicó a cada planta un litro de agua en cada riego según su régimen al que perteneció y se observaron 35 días en invernadero, determinando caracteres de altura de planta, diámetro de tallo, índice de clorofila, número de flores, número de brotes axilares y número de frutos por planta, además se determinó la longitud y ancho de raíz, peso fresco y seco de tallo, peso fresco y seco de raíz, y número de raíces secundarias. Los resultados del análisis de varianza mostraron efecto estadístico entre las poblaciones para todos los caracteres evaluados, indicativo de la alta diversidad genética que existe entre los genotipos. Por otro lado, para la mayoría de los caracteres, los riegos de cada 8 y 12 días (Régimen de riego 1 y 2) favorecieron la mejor respuesta en todos los genotipos. En el cuarto experimento, se realizó una Cromatografía en Capa Fina, para lo cual se llevó a cabo primeramente la extracción de oleorresina de *Capsicum* (OC) de 11 poblaciones de Chile piquín silvestre

y tres testigos; posteriormente se realizó la aplicación de la oleorresina de todas las poblaciones y testigos en la placa y para hacerla correr y observar cómo se plasmaron en la superficie. Los resultados obtenidos indican que las manchas Rf para todos los piquines resultaron en un rango de Rf=0.32 a 0.68; y para Testigo en rango de Rf= 0.87 a 0.90. por lo que, existe una diferencia en las oleorresinas de todos los piquines, aunque en un rango muy similar entre ellos; e igualmente el comportamiento de los testigos fue muy similar entre ellos. Para la población San Antonio Tancoyol (Q4) se observó un patrón distinto que resalta entre los demás.

Palabras clave: *Capsicum annum*, caracterización morfología y genética, factores biótico y abióticos y oleorresina.

SUMMARY

The cultivation of pepper (*Capsicum* spp.) is important in the history, tradition and culture of México, and over time, has been one of the main crops used as food, and is also a product with high demand world, which generates significant economic income. Currently, the wild piquín chile is very appreciated for its flavor, as a condiment of Mexican food, but it is still unknown what quantities of oleoresins (carotenoids) have the fruits of the region of study, so it is of scientific, social interest, agronomic and economic knowledge. The objective of the research was to morphologically characterize wild piquín chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) from Querétaro and Guanajuato based on tolerance to biotic and abiotic factors, determine the biochemical properties of the fruit and quantify its diversity and genetic structure. To fulfill the above, a series of experiments were proposed: 1) morphological and genetic characterization of diversity, 2) tolerance to biotic and abiotic factors and 3) chemical test of thin-layer chromatography (TLC). In the first investigation, the objective was to analyze the morphological variability of 11 populations of wild piquín chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) of the Sierra Gorda and Semidesierto de Querétaro (Municipalities of Arroyo Seco, Jalpan de Serra, Tolimán and Cadereyta de Montes) and Guanajuato (Municipality of Xichú). The characterization was carried out under greenhouse conditions at the Technological Institute of Roque (ITR). 44 characters were registered in seedling, plant, flowering, fruit maturity and seed. The CP1 was explained by the characteristics of weight (0.326), width (0.301) and length of fruit (0.271); leaf density (0.277) and seed diameter (0.297). In CP2, the variables that contributed most to the expression of the variation were width (0.329) and leaf pubescence (0.317) and finally, in CP3 the shape of the fruit (0.344) and color of the anthers (-0.308) were the most important characters. On the other hand, the conglomerate analysis generated four groups; group I included the G3 populations (Rosa de Castilla), G2 (Palmitas El Tanque), G1 (El Tanque), all of the Sierra Gorda in Guanajuato. Group II was made up of population Q7 (El Patol, Querétaro). Group III

integrated by six populations; Q4 (San Antonio Tancoyol), Q8 (Higuerillas arroyo), Q6 (Higuerillas El Shote), Q2 (El Refugio solar-huerta), Q3 (Tancoyol carr. to Tancoyol) and Q1 (El Refugio El Chilar), all of the State of Querétaro. The morphological diversity found in this species tells us that this native plant should be conserved and that it can be easily integrated into a program of sustainable use of the flora of the region. On the other hand, the description of the diversity and genetic structure of *C. annum* var. *glabriusculum* (piquín). For this, they collected samples of *C. annum*, neutral markers were optimized, of which five were selected, the collection of samples generated with which genetic diversity was later calculated and its structure was observed. The results suggest that the populations sampled are genetically homogeneous, although with some diversity; and where the analysis of F_{st} and PCA suggest that there is little differentiation between the populations, confirming the observed with the distribution of allelic frequencies. In a second trial, the incidence, susceptibility, root size and stem height were evaluated in wild piquín chile plants (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum*) inoculated with the fungus *Phytophthora capsici* in 11 populations of the Sierra Gorda de Querétaro and Guanajuato. The evaluation was carried out under greenhouse conditions at the Technological Institute of Roque (ITR). The plants were planted in plastic bags with common agricultural land and were placed inside a greenhouse giving the appropriate agronomic conditions. For each of the 11 populations, 5 plants were taken: 4 repetitions and 1 control; 100,000 zoospores were applied to each inoculated plant, the plants were inoculated into the root and were observed for 22 weeks. The results obtained were for incidence, an average of 90.9% of plants affected by *Phytophthora capsici*; for susceptibility the majority presented very high susceptibility and only the G1 population presented very low susceptibility, which makes it very interesting for further studies. Root size after the fungus affectation the majority of the populations showed an average growth at half of the size of the control, with the exception of Q8 and G1 that were very close to the size of the control; and for stem height all the populations were below their respective witnesses, only the G3 population had a growing average close to the control. Due to the above, the populations of Guanajuato (G1 and G3) stood out in these evaluations, so they can be considered as interesting materials for genetic improvement. The third trial aimed to evaluate the tolerance to water deficit in wild piquín chile (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum*) plants of 10 populations of the Sierra Gorda de Querétaro and Guanajuato. The evaluation was carried out under greenhouse conditions. The plants were planted in plastic bags with common agricultural land and were placed inside a greenhouse giving the appropriate agronomic conditions. Four irrigation schedules (including the control) were evaluated in each of the 10 populations, where for each population 11 plants were taken: 3 plants for each calendar and 2 control plants; where a liter of water was applied to each plant in each irrigation according to its regime to which it belonged and 35 days were observed in the greenhouse, determining characters of plant height, stem diameter, chlorophyll index, number of flowers, number of axillary shoots and number of fruits per plant, in addition the length and width of root, fresh and dry weight of stem, fresh weight and dry root, and number of secondary roots. The results of the analysis of variance showed statistical effect among the populations for all the evaluated characters, indicative of the high genetic diversity

that exists between the genotypes. On the other hand, for most of the characters, the risks of every 8 and 12 days (Irrigation regimen 1 and 2) favored the best response in all the genotypes. In the fourth experiment, a Thin Layer Chromatography was carried out, for which *Capsicum* oleoresin (OC) was first extracted from 11 populations of wild piquín chile and three controls; Afterwards, the application of the oleoresin of all the populations and controls in the plate was made and to make it run and observe how they were formed on the surface. The results obtained indicate that the Rf spots for all the piquines resulted in a range of $Rf = 0.32$ to 0.68 ; and for Witness in the range of $Rf = 0.87$ to 0.90 . therefore, there is a difference in the oleoresins of all piquines, although in a very similar range among them; and similarly the behavior of the witnesses was very similar among them. For the San Antonio Tancoyol population (Q4) a different pattern was observed that stands out among the others.

Key words: *Capsicum annuum*, characterization morphology and genetics, biotic and abiotic factors and oleoresin.