

INDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. Formulación del marco teórico	2
2. Antecedentes bibliográficos	3
2.1. La frutilla nativa blanca	3
2.2. Maduración de los frutos	4
2.3. Calidad	5
2.4. Pérdida de firmeza	6
3. Planteamiento del problema	7
4. Formulación de la hipótesis	8
5. Objetivos generales y específicos	8
5.1. Objetivo general	8
5.2. Objetivos específicos	8
CAPITULO I	
Aislamiento de genes expresados diferencialmente durante el desarrollo y maduración de <i>Fragaria chiloensis</i> L. (Mill.) mediante hibridación substractiva supresiva (SSH)	9
1. Introducción	10
1.1. Desarrollo, maduración y firmeza de los frutos de <i>Fragaria chiloensis</i>	10
1.2. Identificación de genes relacionados con la maduración en frutilla	10
2. Materiales y métodos	13
2.1. Material vegetal	13
2.2. Extracción de RNA	13
2.3. Síntesis de cDNA de doble hebra	14
2.4. Construcción de las bibliotecas sustractivas supresivas (SSH)	15
2.5. Secuenciación y análisis de ESTs	18
2.6. Aislamiento de las secuencias de largo completo de los genes MADS-box	19
2.7. Análisis de expresión de los genes candidatos por qRT-PCR	20
2.8. Análisis estadístico	22

3. Resultados y discusión	23
3.1. Construcción, ensamble y anotación de los cDNAs diferencialmente expresados	23
3.2. Clasificación funcional de los genes diferencialmente expresados	25
3.3. Identificación de genes relacionados con ablandamiento y maduración y obtención del patrón de expresión	30
4. Conclusiones	40

CAPITULO II

Efecto de las hormonas auxina y etileno en los perfiles transcripcionales de los genes candidatos identificados de la bibliotecas SSH	43
--	----

1. Introducción	44
1.1. Maduración de frutos: regulación hormonal	44
1.2. Auxina	45
1.3. Etileno	46
2. Materiales y métodos	48
2.1. Material vegetal	48
2.2. Extracción de RNA y síntesis de cDNA	48
2.3. Análisis de expresión de los genes candidatos por qRT-PCR	48
2.4. Tratamientos hormonales	48
2.4.1. Auxina	48
2.4.2. Etileno y 1-MCP	49
2.5. Medición de firmeza de los frutos	50
2.6. Tasa de producción de etileno y CO ₂	50
2.7. Análisis estadístico	50
3. Resultados y discusión	51
3.1. Efecto de auxina en la expresión de los genes candidatos	51
3.2. Efecto de etileno y 1-MCP en la expresión de los genes candidatos	58
4. Conclusiones	71

CAPITULO III

Identificación de acuaporinas y su expresión durante el desarrollo y maduración de los frutos de *Fragaria chiloensis* L. (Mill.)

1. Introducción	74
1.1. El agua en el crecimiento y maduración de los frutos carnosos	74
1.2. Acuaporinas o canales de agua	74
1.3. Acuaporinas en frutos	76
2. Materiales y métodos	78
2.1. Material vegetal	78
2.2. Extracción de RNA	78
2.3. Aislamiento de secuencias de largo completo	78
2.4. Análisis de expresión por qRT-PCR	79
2.5. Extracción de DNA genómico	80
2.6. Detección de número de copias génicas de <i>FcNIP2;1</i> , <i>FcPIP2;1</i> y <i>FcPIP1;1</i>	80
2.7. Análisis bioinformático	82
2.8. Tratamientos hormonales	82
2.9. Temperatura de almacenaje	83
2.10. Medición de firmeza de los frutos	83
2.11. Análisis estadístico	83
3. Resultados y discusión	83
3.1. Aislamiento de cDNAs de largo completo	83
3.1.1. <i>FcNIP2;1</i> proteína intrínseca parecida a Nodulina 26 de <i>F. chiloensis</i>	83
3.1.2. <i>FcPIP2;1</i> y <i>FcPIP1;1</i> proteínas intrínsecas de membrana plasmática de <i>F. chiloensis</i>	87
3.2. Detección del número de copias génicas de <i>FcNIP2;1</i> , <i>FcPIP2;1</i> y <i>FcPIP1;1</i>	97
3.3. Análisis transcripcional de <i>FcNIP2;1</i> , <i>FcPIP2;1</i> y <i>FcPIP1;1</i> durante el desarrollo y maduración de los frutos	98

3.4. Efecto de auxina en la abundancia de transcritos de <i>FcNIP2;1</i> , <i>FcPIP2;1</i> y <i>FcPIP1;1</i>	102
3.5. Efecto de etileno y 1-MCP en la abundancia de transcritos de <i>FcNIP2;1</i> , <i>FcPIP2;1</i> y <i>FcPIP1;1</i>	104
3.6. Efecto de la temperatura de almacenaje en la abundancia de transcritos de <i>FcNIP2;1</i> , <i>FcPIP2;1</i> y <i>FcPIP1;1</i>	107
4. Conclusiones	112
CONCLUSIONES GENERALES	114
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	117
ANEXOS	133