

Índice general

Índice de Tablas.....	4
Índice de figuras.....	5
Índice de anexos.....	7
Abreviaturas.....	8
Resumen.....	9
Abstract.....	10

Capítulo I: Marco teórico general.....11

I.1 Introducción.....	12
I.1.1 Características generales de la frutilla chilena.....	12
I.1.3 Situación de la frutilla en Chile.....	13
I.2 <i>Fragaria chiloensis</i> y su respuesta a distintas enfermedades.....	15
I.2.1 Situación de <i>Botrytis cinerea</i> en el género <i>Fragaria</i>	16
I.2.2 Agente causal y ciclo de vida de <i>Botrytis cinerea</i>	16
I.2.3 Antecedentes de la interacción patogénica planta- <i>Botrytis</i>	19
I.3 Objetivo general.....	25
I.3.1 Objetivos específicos.....	25
I.3.2 Hipótesis de trabajo.....	25

Capítulo II: Susceptibilidad de *Fragaria chiloensis* bajo la infección de *Botrytis cinerea*.....25

II.1.1 Marcadores moleculares en el género <i>Fragaria</i>	27
II.2 Materiales y métodos.....	34
II.2.1 Colecta de materiales biológicos para el estudio.....	34
II.2.1.1 Material vegetal.....	34
II.2.1.2 Material fúngico.....	34
II.2.1.3 Medio de cultivo.....	35
II.2.2 Identificación molecular de las cepas de <i>Botrytis cinerea</i>	35
II.2.2.1 Extracción de ADN para hongos filamentosos.....	35
II.2.2.2 Identificación de <i>Botrytis cinerea</i>	36
II.2.3 Determinación de la respuesta de <i>Fragaria chiloensis</i> (Contulmo, Chillán y Vilches) y <i>Fragaria x ananassa</i> cv. Chandler a la infección de <i>Botrytis cinerea</i>	37
II.2.3.1 Inoculación de hojas con <i>B. cinerea</i>	37
II.2.3.1.1 Evaluación de metodología de inoculación sobre hojas.....	38
II.2.3.1.2 Diseño del ensayo.....	38
II.2.3.2 Inoculación de frutos con <i>Botrytis cinerea</i>	39
II.2.3.2.1 Evaluación de metodología de inoculación sobre frutos.....	39
II.2.3.2.2 Diseño del ensayo.....	40
II.2.3.2 Evaluación de la respuesta de hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> (Contulmo, Chillán y Vilches) y <i>Fragaria x ananassa</i> cv. Chandler a la infección de <i>Botrytis cinerea</i>	40
II.2.3.2.1 Diseño del ensayo.....	40
II.2.3.2 Evaluación de la respuesta de frutos de <i>Fragaria chiloensis</i> (Contulmo) y <i>Fragaria x ananassa</i> cv. Chandler a la infección de <i>Botrytis cinerea</i>	41
II.2.4 Análisis de la diversidad genética de <i>Fragaria chiloensis</i> (grupos Contulmo, Chillán y Vilches) y <i>Fragaria x ananassa</i>	41
II.2.4.1 Muestreo.....	41
II.2.4.2 Extracción de ADN.....	41
II.2.4.3 Amplificación de ADN, usando paridores ISSR.....	42
II.2.5 Respuesta de <i>Fragaria chiloensis</i> grupo Contulmo a la infección de <i>Botrytis cinerea</i>	43
II.2.5.1 Diseño del ensayo.....	43
II.2.5.2 Clasificación de las plantas en respuesta a la infección.....	44
II.3 Análisis de los resultados.....	45
II.3.1 Identificación genética de <i>Botrytis cinerea</i>	45

II.3.1.1	Detección de los elementos <i>Boty</i> y <i>Flipper</i> en <i>B. cinerea</i>	45
II.3.2	Análisis de la diversidad genética de <i>Fragaria chiloensis</i> (Contulmo, Chillán y Vilches) y <i>Fragaria x ananassa</i> cultivar Chandler	47
II.3.2.1	Análisis de varianza molecular (AMOVA).....	50
II.3.3	Respuesta de poblaciones de <i>Fragaria chiloensis</i> (Contulmo, Chillán y Vilches) y <i>Fragaria x ananassa</i> cultivar Chandler, a la infección producida por <i>Botrytis cinerea</i>	50
II.3.3.1	Infecciones sobre hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> grupo Contulmo, Vilches, Chillán y <i>Fragaria x ananassa</i> cv Chandler	51
II.3.3.2	Infecciones sobre Frutos de <i>Fragaria chiloensis</i> (Contulmo) y <i>Fragaria x ananassa</i> cultivar Chandler.	53
II. 3.4	Respuesta de <i>Fragaria chiloensis</i> grupo Contulmo a la infección de <i>Botrytis cinerea</i>	55
II.3.4.1	Infecciones sobre hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> grupo Contulmo.....	55
II.4	Discusión de los resultados.....	57
II.4.1	Identificación de <i>B. cinerea</i>	57
II.4.2	Análisis de la diversidad genética de <i>Fragaria chiloensis</i> (Contulmo, Vilches y Chillan) y <i>Fragaria x ananassa</i>	58
II.4.3	Respuesta de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i> a la infección producida por <i>Botrytis cinerea</i> sobre hojas y frutos.	61
II.4.4	<i>Fragaria chiloensis</i> grupo Contulmo asociado a la respuesta a infección de <i>Botrytis cinerea</i>	63
II.5	Conclusiones.....	64

Capítulo III: Expresión de genes en *Fragaria chiloensis* bajo la infección de *Botrytis cinerea*.....64

III.1	Introducción	67
III.2	Materiales y métodos.....	72
III.2.2	Material vegetal y fúngico	72
III.2.3	Diseño del ensayo.....	72
III.2.4	Extracciones de ARN total de hojas de <i>Fragaria chiloensis</i>	73
III.2.5	Generación de la librería substractiva con la técnica hibridación substractiva por supresión (SSH).	74
III.2.6	Clonación y transformación.....	74
III.2.6.1	Selección de colonias transformadas.	75
III.2.6.2	Extracción de ADN plasmidial y secuenciación.....	75
III.2.7	Análisis de secuencias	75
III.2.8	Validación de los fragmentos encontrados por SSH: Northern blot Reverso.	75
III.2.8.1	Marcaje radioactivo	76
III.2.9	Elongación ADNc, RACE PCR.	76
III.2.10	Análisis de las secuencias.....	77
III.2.11	Cuantificación de la expresión de los genes <i>FcPR5</i> y <i>FcPR10</i> encontrados por SSH en <i>F. chiloensis</i> (Contulmo) ante la infección de <i>B. cinerea</i>	77
III.2.11.1	Reacciones de RT	78
III.2.11.2	Generación de partidores para PCR en tiempo real.	79
III.2.11.3	Cuantificación de las reacciones de PCR.	79
III.2.11.4	Cálculo de eficiencia y CT	79
III.2.11.5	Análisis de la expresión relativa.	80
III.2.12	Evaluación y análisis estadístico de la expresión relativa de cada proteína relacionada a patogénesis.	81
III.3	Resultados.....	82
III.3.1	Exploración de genes de expresión diferencial frente a la infección de <i>Botrytis cinerea</i> en <i>Fragaria chiloensis</i>	82
III.3.1.1	Extracción de los ARN totales y síntesis de ADN.....	82
III.3.1.1	Generación de una biblioteca a través de hibridación supresiva por substracción (SSH).....	83
III.3.2	Verificación y validación de la expresión diferencial de ESTs.	84
III.3.3	Análisis y caracterización de la secuencias relacionadas a patogénesis encontradas por expresión diferencial cualitativa en Northern blot reverso.	89
III.3.3.2	Análisis de la identidad de <i>FcPR10</i>	91
III.3.3.3	Análisis filogenético de <i>FcPR5</i>	93
III.3.3.4	Análisis de la identidad de <i>FcPR5</i>	94

III.3.4	Análisis cuantitativo de la expresión de los genes <i>FcPR5</i> y <i>FcPR10</i> en <i>Fragaria chiloensis</i> infectada con <i>Botrytis cinerea</i> , a través de PCR en tiempo Real.	98
III.3.4.1	Comparación de la expresión de <i>FcPR10</i> en frutos de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i>	98
III.3.4.2	Comparación de la expresión de <i>FcPR10</i> en hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i>	100
III.3.4.2	Comparación de la expresión de <i>FcPR10</i> en folíolos centrales directamente inoculados con <i>B. cinerea</i> y folíolos laterales sin inoculación de <i>Fragaria chiloensis</i>	102
III.3.5	Comparación de la expresión de <i>FcPR5</i> en frutos de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i>	104
III.3.5.1	Análisis de la expresión de <i>FcPR5</i> en folíolos centrales y laterales de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i> , comparación de ambas especies.	106
III.3.5.2	Comparación de la expresión de <i>FcPR5</i> en hojas de <i>F. chiloensis</i> , folíolos centrales directamente inoculados con la infección de <i>B. cinerea</i> y folíolos laterales sin inoculación directa.	109
III.3.6	Análisis integrado de la expresión cuantitativa de los genes <i>FcPR5</i> y <i>FcPR10</i> en frutos y hojas de <i>F. chiloensis</i>	111
III.4	Discusión.	114
III.4.1	Exploración de genes de expresión diferencial y desarrollo de la biblioteca substractiva por supresión. .	114
III.4.2	Estudio de la expresión diferencial de genes: técnica northern reverso.	115
III.4.3	Análisis y caracterización de las secuencias <i>FcPR5</i> y <i>FcPR10</i>	119
III.4.4	Expresión cuantitativa de los genes <i>FcPR5</i> y <i>FcPR10</i> en <i>Fragaria chiloensis</i> bajo la infección de <i>Botrytis cinerea</i>	121
III.5	Conclusiones del capítulo III.	128
IV	Capítulo IV: Discusión final.	129
V.	Conclusión general de la tesis.	135
V.I.	Proyecciones futuras.	135
VII.	Referencias.	136
VIII.	ANEXOS.	142

Indice de Tablas

Tabla 1:	Resumen de los tratamientos utilizados para evaluar metodología de inoculación en hojas de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i> cv Chandler.	39
Tabla 2:	Tratamientos utilizados para evaluar metodología de inoculación sobre frutos de <i>Fragaria chiloensis</i> (Contulmo) y <i>Fragaria x ananassa</i> cv chandler.	40
Tabla 3:	Lista de marcadores moleculares tipo anchored o ISSR.	42
Tabla 4:	Clasificación de <i>F. chiloensis</i> grupo Contulmo en respuesta a la infección de <i>B. cinerea</i>	444
Tabla 5:	Clasificación de los aislados de <i>Botrytis cinerea</i> utilizados en el estudio.	47
Tabla 6:	Distancia e identidad genética de Nei's pareada de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i>	49
Tabla 7:	PhiPT pareado entre poblaciones de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i>	50
Tabla 8:	Clasificación individual de las plantas de Contulmo en respuesta a la infección por <i>B. cinerea</i> en base al porcentaje de área foliar necrosada a los 13 dpi.	56
Tabla 9:	Tratamientos evaluados con PCR en tiempo real, para determinar la respuesta en hojas y frutos de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i> frente a la infección de <i>B. cinerea</i>	78
Tabla 10:	Resumen de los tipos de bibliotecas construidos en el ensayo de exploración de genes de expresión diferencial frente a la infección de <i>Botrytis cinerea</i> en <i>Fragaria chiloensis</i>	83
Tabla 11:	Partidores diseñados a partir de los fragmento <i>FcPR5</i> y <i>FcPR10</i> obtenidos por la técnica SSH y utilizados para elongar las secuencias con RACE.	90
Tabla 12:	Partidores específicos diseñados a partir de las secuencias elongadas por RACE de <i>FcPR5</i> y <i>FcPR10</i>	96
Tabla 13:	Cálculo de eficiencia, partidores de qFaGAPDH, qFcPR5, qFcPR10 en la exploración de genes de expresión diferencial frente <i>B. cinerea</i> en <i>F. chiloensis</i>	97

Tabla 14:	Comparación de la expresión relativa de <i>FcPR10</i> en frutos de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i> , durante 5 días post-inoculación con <i>Botrytis cinerea</i>	99
Tabla 15:	Comparación de la expresión relativa <i>FcPR10</i> en folíolos centrales en hojas de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i> inoculadas con <i>B. cinerea</i>	101
Tabla 16:	Comparación de la expresión relativa <i>FcPR10</i> en folíolos centrales y folíolo lateral 3 días post-inoculación con <i>Botrytis cinerea</i> en hojas de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i>	102
Tabla 17:	Comparación de la expresión relativa de <i>FcPR10</i> en folíolos centrales y laterales en <i>Fragaria chiloensis</i> inoculadas con <i>Botrytis cinerea</i>	103
Tabla 18:	Comparación de la expresión relativa <i>FcPR10</i> en folíolo centrales y laterales en hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i> inoculadas con <i>Botrytis cinerea</i>	104
Tabla 19:	Comparación de la expresión relativa de <i>FcPR5</i> en frutos de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i> inoculados con <i>Botrytis cinerea</i>	106
Tabla 20:	Comparación de la expresión relativa <i>FcPR5</i> en folíolo centrales y folíolo lateral al tercer día post-inoculación con <i>Botrytis cinerea</i> en hojas de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i>	108
Tabla 21:	Expresión relativa de <i>FcPR5</i> en folíolos centrales (hojas) de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i> inoculadas con <i>Botrytis cinerea</i>	108
Tabla 22:	Comparación de la expresión relativa de <i>FcPR5</i> en folíolos centrales y laterales de <i>Fragaria chiloensis</i> inoculados con <i>Botrytis cinerea</i>	110
Tabla 23:	Comparación de la expresión relativa de <i>FcPR5</i> en folíolos centrales y laterales de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i> con tres días post-inoculación con <i>B. cinerea</i>	110
Tabla 24:	Comparación de la expresión relativa de <i>FcPR5</i> y <i>FcPR10</i> en frutos de <i>Fragaria chiloensis</i> durante cinco días post-inoculación con <i>Botrytis cinerea</i>	112
Tabla 25:	Comparación de la expresión relativa de <i>P FcR10</i> y <i>FcPR5</i> en hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> , folíolos laterales y centrales inoculados con <i>Botrytis cinerea</i>	113

Índice de figuras

Figura 1:	Ciclo de infección de <i>Botrytis cinerea</i> (Agrios, 2005).....	18
Figura 2:	Representación esquemática de un partidior ISSR	30
Figura 3:	Esquema de la metodología de inoculación utilizada en plantas de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i>	38
Figura 4:	Esquema de la metodología de infección en frutos de <i>Fragaria chiloensis</i> grupo Contulmo y <i>Fragaria x ananassa</i> cultivar Chandler.....	39
Figura 5:	Productos de PCR obtenidos utilizando el marcador molecular de Rigotti (2002).....	45
Figura 6:	Productos de PCR obtenidos para los distintos aislados de <i>Botrytis cinerea</i> empleados en el estudio, que permiten identificar el elemento transponible <i>Boty</i>	46
Figura 7:	Productos de PCR obtenidos para los distintos aislados de <i>Botrytis cinerea</i> empleados que permiten identificar elemento <i>Flipper</i>	47
Figura 8:	Polimorfismo encontrado para distintas poblaciones de <i>Fragaria</i> con el partidior 825 (ISSRs). 48	
Figura 9:	Análisis de similitud realizado a plantas de distintas poblaciones de <i>Fragaria chiloensis</i> provenientes de diferentes localidades de la zona centro-sur de Chile y <i>F. x ananassa</i>	49
Figura 10:	Desarrollo de la infección de <i>Botrytis cinerea</i> en hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> (Contulmo, Chillán y Vilches) y <i>Fragaria x ananassa</i> (Chandler).	52
Figura 11:	Desarrollo de infección por <i>B. cinerea</i> sobre frutos de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. ananassa</i>	54
Figura 12:	Esquema de la técnica hibridación substractiva de supresión (SSH).....	70
Figura 13:	Esquema de la metodología de inoculación con <i>Botrytis cinerea</i> de folíolos de plantas de <i>Fragaria chiloensis</i> grupo Contulmo.	72
Figura 14:	Extracciones de ARN totales desde hojas infectadas de <i>Fragaria chiloensis</i> grupo Contulmo e cinco días post-inoculación con <i>Botrytis cinerea</i>	82
Figura 15:	Gráfico representativo de los grupos de secuencias encontradas en Hibridación substractiva por supresión, subtracción forward.	84

Figura 16:	Northern blot reverso para insertos de biblioteca SSH en la condición de cinco días post-inoculación de <i>B. cinerea</i> sobre hojas de <i>Fragaria chiloensis</i>	85
Figura 17:	Patrón de expresión cinético sobre distintos fragmentos encontrados por SSH, a través de análisis Northern blot reverso, 9 dpi.....	86
Figura 18:	Normalización de la expresión en las condiciones de control y 5 días post-inoculación con <i>B. cinerea</i> sobre hojas de <i>Fragaria chiloensis</i>	88
Figura 19:	Asociación filogenética nucleotídica de <i>FcPR10</i> encontrada en <i>Fragaria chiloensis</i> frente a la infección de <i>Botrytis cinerea</i> para genes relacionados a patogénesis del grupo diez.....	91
Figura 20:	Alineamiento de la secuencia aminoacídica de FcPR10 con otras secuencias relacionadas a patogénesis grupo 10.....	92
Figura 21:	Esquema de la porción proteica de FcPR10 encontrada en <i>Fragaria chiloensis</i> en respuesta a la infección de <i>B. cinerea</i>	93
Figura 22:	Asociación filogenética nucleotídica <i>FcPR5</i> de <i>Fragaria chiloensis</i> frente a la infección de <i>Botrytis cinerea</i> , para genes relacionados a patogénesis del grupo cinco.....	94
Figura 23:	Alineamiento de la secuencia aminoacídica de FcPR5 con secuencias relacionadas a patogénesis grupo 5.....	95
Figura 24:	Esquema de la proteína FcPR5, encontrada en <i>Fragaria chiloensis</i> en respuesta a la infección de <i>Botrytis cinerea</i>	96
Figura 25:	Expresión relativa de <i>FcPR10</i> durante cinco días post-inoculación con <i>B. cinerea</i> en frutos de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i>	99
Figura 26:	Expresión de <i>FcPR10</i> en foliolos centrales de hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i> , durante siete días de estudio.....	100
Figura 27:	Expresión relativa <i>FcPR10</i> en hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i> , comparación de foliolos centrales y tres días post-inoculación foliolo lateral.....	101
Figura 28:	Expresión de <i>FcPR10</i> en foliolos centrales y laterales de hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> , durante siete días de post-inoculación con <i>Botrytis cinerea</i>	103
Figura 29:	Expresión de <i>FcPR5</i> en frutos de <i>F. chiloensis</i> y <i>F. x ananassa</i> , durante 5 días.....	105
Figura 30:	Comparación de la expresión relativa de <i>FcPR5</i> en foliolos centrales sobre hojas <i>F. x ananassa</i> y <i>F. chiloensis</i> , infectadas con <i>B. cinerea</i> hasta siete días post-inoculación.....	107
Figura 31:	Expresión relativa de <i>FcPR5</i> en foliolos centrales y laterales (al tercer día post-inoculación) en <i>F. x ananassa</i> y <i>F. chiloensis</i> , infectadas con <i>B. cinerea</i> hasta siete días post-inoculación.....	107
Figura 32:	Comparación de la expresión relativa de <i>FcPR5</i> en foliolos centrales y laterales sobre hojas de <i>F. chiloensis</i> , durante siete días post-inoculación con <i>Botrytis cinerea</i>	109
Figura 33:	Comparación de la expresión relativa de <i>FcPR5</i> y <i>FcPR10</i> en frutos <i>F. chiloensis</i> , cinco días post-inoculación con <i>Botrytis cinerea</i>	111
Figura 34:	Comparación en “hojas”, de la expresión relativa de <i>FcPR5</i> y <i>FcPR10</i> en foliolos centrales y laterales de <i>F. chiloensis</i> . Durante siete días post-inoculación con <i>Botrytis cinerea</i>	113

Indice de Anexos

Anexo 1:	Tablas de ANOVA comparación de dos fechas de inoculación de <i>B. cinerea</i> sobre <u>hojas</u> <i>F. chiloensis</i> grupo Chillán y sobre <u>hojas</u> <i>F. chiloensis</i> :Vilches.....	142
Anexo 2:	Tablas de ANOVA comparación de dos fechas de inoculación de <i>B. cinerea</i> sobre <u>frutos</u> <i>F. chiloensis</i> grupo Contulmo y <u>frutos</u> <i>F. x ananassa</i> cv Chandler.....	142
Anexo 3:	Secuencia Fotografica de infección de <i>B. cinerea</i> en hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> grupo Contulmo, Chillán, Vilches y <i>Fragaria x ananassa</i> cv. Chandler.....	143
Anexo 4:	4.A y 4.B Curva de progresión de la enfermedad producida por <i>B. cinerea</i> sobre hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria x ananassa</i>	144
Anexo 5:	Secuencia de infección sobre frutos de <i>Fragaria chiloensis</i> y <i>Fragaria</i> grupo Contulmo y <i>Fragaria x ananassa</i> cv. Chandler.....	144
Anexo 6:	Frecuencia del número de plantas de <i>Fragaria chiloensis</i> grupo Contulmo por clasificación individual de respuesta a <i>B. cinerea</i>	145
Anexo 7:	Amplificación selectiva a través de la técnica SSH, en hojas de <i>Fragaria chiloensis</i> , cinco días post-inoculación y control sin infección con <i>Botrytis cinerea</i>	145
Anexo 8:	PCR en colonia utilizando partidores M ₁₃	146
Anexo 9:	PCR en colonia utilizando partidores M ₁₃	146
Anexo 10:	PCR en colonia utilizando partidores M ₁₃	146
Anexo 11:	PCR en colonia utilizando partidores M ₁₃	146
Anexo12:	Listado de secuencias encontradas por la técnica HSS, substracción forward	147
Anexo 13:	Listado de secuencias encontradas por la técnica HSS, substracción reversa.....	153
Anexo 14:	Proteínas <i>FcPR</i> elongadas por la técnica RACE.....	154

ABREVIATURAS

ADNc	:	Acido desoxirribonucleico complementario
cv	:	Cultivar
Da	:	Dalton
dATP	:	Trifosfato de desoxiadenosina
dCTP	:	Trifosfato de desoxicitosina
DEPC	:	Dietil pirocarbamato
dGTP	:	Trifosfato de desoxiguanosina
DNA	:	Acido desoxirribonucleico
DNAsa	:	Desoxirribonucleasa
dNTPs	:	Desoxirribonucleotidos
Dpi	:	Días después de inoculación
dTTP	:	Trifosfato de desoxitimidina
dUTP	:	Trifosfato de desoxiuracilo
EDTA	:	Acido etilendiamino-tetra-acetico
ESTs	:	Secuencias cortas expresadas
f	:	Forma botanica
ha	:	Hectarea
IPTG	:	Isopropil- β -D-tiogalactopiranosido
Kb	:	Kilobase
kDa	:	Kilodalton
LiCl	:	cloruro de litio
MOPS	:	Acido 3-(N-morfolino)-propanosulfonico
mRNA	:	Acido ribonucleico mensajero
nm	:	Nanometros
ORF	:	Marco de lectura abierto
pb	:	Pares de bases
RACE	:	Amplificacion rapida de extremos de cDNA
RNA	:	Acido ribonucleico
RNAsa	:	Ribonucleasa
rpm	:	Revoluciones por minuto
ARN	:	Acido ribonucleico ribosomal
SDS	:	Dodecil sulfato de sodio
STE	:	Sodio- Tris-EDTA.
ssp	:	Subespecie
TAE	:	Tris-acetato-EDTA
TE	:	Tris-EDTA
UTR	:	Region no traducida
UV	:	Ultravioleta
V	:	Volt
v/v	:	Volumen/volumen
X-Gal	:	5-Bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-galactopiranosido