

## INDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>9</b>
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	<b>12</b>
<b>1. Formulación del marco teórico</b>	<b>12</b>
<b>2. Antecedentes bibliográficos</b>	<b>14</b>
2.1. El fruto de <i>Fragaria chiloensis</i> L. Duch.	14
2.2. Ensamblaje y desensamblaje de la pared celular vegetal.	16
2.3. Concepto de maduración frutal.	17
2.4. Factores de Transcripción del tipo NAC.	18
<b>3. Planteamiento del problema</b>	<b>21</b>
<b>4. Formulación de hipótesis</b>	<b>22</b>
<b>5. Objetivos generales y específicos</b>	<b>22</b>
5.1. Objetivo general	22
5.2. Objetivos específicos	22

## CAPITULO 1

**Caracterización de un cDNA que codifica para un factor de transcripción de la familia NAC (*FcNAC1*) expresado en frutos de *Fragaria chiloensis*.**

<b>1. Introducción</b>	<b>24</b>
<b>2. Materiales y métodos</b>	<b>26</b>
2.1. Material vegetal.	26
2.1.1. Extracción de RNA.	26
2.1.2. Síntesis de cDNA.	28
2.2. Obtención del cDNA de largo completo de FcNAC1.	28
2.2.1 Diseño de partidores para RACE.	28
2.2.2 Generación del cDNA para RACE.	29

2.2.3 PCR RACE.	30
2.2.4 Clonamiento y secuenciación de productos de RACE y Clonamiento del cDNA de largo completo FcNAC1.	30
2.3. Alineamiento múltiple y análisis filogenético.	32
2.4. Modelamiento por homología y refinamiento por dinámica molecular.	32
2.5. Expresión transiente en hojas de <i>Nicotiana benthamiana</i> y localización sub-celular de FcNAC1.	33
2.6. Análisis de expresión relativa mediante RT-qPCR.	35
2.7 Ensayo funcional de transactivación transcripcional mediante técnica de luciferasa dual.	37
2.8 Análisis estadísticos.	38
<b>3. Resultados y discusión</b>	
3.1. Obtención de la secuencia de largo completo del factor de transcripción FcNAC1.	39
3.2. Análisis filogenético.	43
3.3. Análisis de expresión del gen <i>FcNAC1</i> en frutos y tejidos vegetativos.	46
3.4. Clonamiento de <i>FcNAC1</i> y su localización subcelular en hojas de tabaco.	48
3.5. Análisis funcional <i>in-planta</i> del gen <i>FcNAC1</i> mediante transactivación transcripcional.	50
3.6. Modelamiento estructural del dominio NAC presente en el factor de transcripción FcNAC1.	53
<b>4. Conclusiones</b>	60

## CAPITULO 2

### Estudio de la modulación de la expresión génica del gen *FcNAC1* mediante tratamientos hormonales en fruto de *Fragaria chiloensis* y análisis *in-silico* de su secuencia promotora

1. Introducción	62
2. Materiales y métodos	64

2.1. Material vegetal.	64
2.2. Tratamientos Hormonales.	64
2.2.1 ABA.	64
2.2.2 Auxina.	65
2.3. Extracción de DNA genómico.	65
2.4. Obtención de la secuencia promotora del gen FcNAC1.	66
2.5. Análisis bioinformático de las secuencias obtenidas.	67
2.6. Análisis de la expresión génica del gen FcNAC1 de frutos con tratamientos hormonales por qRT-PCR.	68
2.7. Análisis estadísticos.	69
<b>3. Resultados y discusión</b>	
3.1. Obtención de la secuencia promotora del gen <i>FcNAC1</i> y análisis <i>in-silico</i> de sus elementos en cis relacionados a respuestas hormonales y respuesta a miembros de la familia NAC.	70
3.2. Análisis de expresión del gen <i>FcNAC1</i> en frutos tratados con fitohormonas	76
<b>4. Conclusiones</b>	79

### CAPITULO 3

**Caracterización y clonamiento de un cDNA que codifica para otro miembro de la familia NAC (*FcNAC2*) y su potencial interacción con *FcNAC1* mediante ensayos funcionales de luciferasa dual.**

<b>1. Introducción</b>	<b>81</b>
<b>2. Materiales y métodos</b>	<b>83</b>
2.1. Obtención del Material vegetal.	83
2.2. Extracción de RNA.	83
2.3. Clonamiento del gen <i>FcNAC2</i> , alineamiento múltiple y análisis filogenético.	84
2.4. Análisis de la expresión génica.	86

2.5. Ensayo funcional de transactivación transcripcional mediante técnica de luciferasa dual.	87
2.6. Análisis estadístico.	88
<b>3. Resultados y discusión</b>	
3.1. Obtención de la secuencia de largo completo del factor de transcripción FcNAC2.	89
3.2. Análisis filogenético.	94
3.3. Análisis de expresión del gen <i>FcNAC2</i> en frutos y tejidos vegetativos.	96
3.4. Análisis funcional <i>in-planta</i> del gen <i>FcNAC2</i> mediante transactivación transcripcional y su potencial interacción con <i>FcNAC1</i> .	98
<b>4. Conclusiones</b>	<b>103</b>
<b>CONCLUSIONES GENERALES</b>	<b>104</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA GENERAL</b>	<b>109</b>
<b>ANEXO</b>	<b>121</b>
<b>1. Material suplementario</b>	
Characterization of <i>FcNAC1</i> : A novel transcription factor from <i>Fragaria chiloensis</i> fruit.	122
<b>2. Figuras suplementarias</b>	
Figura suplementaria 1	162
Figura suplementaria 2	162
Figura suplementaria 3	163
Figura suplementaria 4	163
<b>2. Abreviaturas</b>	<b>124</b>