



**IDENTIFICACIÓN DE GENES DIFERENCIALMENTE
EXPRESADOS DURANTE EL DESARROLLO Y MADURACIÓN DE
LOS FRUTOS DE FRAGARIA CHILOENSIS L. (MILL.)**

**PAULA A. PIMENTEL PIMENTEL
DOCTOR EN CIENCIAS MENCIÓN INGENIERÍA GENÉTICA VEGETAL**

RESUMEN

La frutilla blanca chilena, *Fragaria chiloensis*, presenta importantes características que le permitirían posicionarse dentro de la oferta frutícola como un producto de exportación. Para esto, es necesario conocer diferentes aspectos del cultivo, siendo los más importantes la fisiología del desarrollo y maduración del fruto y su postcosecha. Se han realizado numerosos estudios en especies del género *Fragaria* con el motivo de estudiar el proceso de maduración y la expresión de genes asociados con este proceso. Sin embargo, se ha llegado a la conclusión que este patrón de expresión varía entre especies e incluso entre cultivares. Debido a esto, el principal objetivo de esta tesis fue identificar genes diferencialmente expresados en los diferentes estadios de desarrollo y maduración de *F. chiloensis* mediante la construcción de bibliotecas substractivas supresivas, para luego seleccionar genes relacionados con la pérdida de firmeza y maduración, estudiar su patrón de expresión durante el desarrollo y analizar el comportamiento de éstos en frutos tratados con las hormonas auxina y etileno. Considerando las seis bibliotecas generadas, se secuenciaron un total de 1807 ESTs de los cuales el 87.16% fueron informativos. La identificación de la función putativa de los ESTs se realizó mediante al algoritmo BLASTN en diferentes bases de datos públicas y los ESTs fueron clasificados en categorías funcionales de acuerdo al Catálogo Funcional (FunCat). La selección de los genes para analizar su expresión por qPCR, se realizó de acuerdo a su función putativa, y a su relación, directa o indirecta, con los procesos de maduración y ablandamiento de los frutos. Así, fueron seleccionados genes relacionados con la regulación hormonal, factores de transcripción asociados con maduración, y enzimas asociadas con la degradación de polisacáridos de pared celular. Los genes seleccionados mostraron diferentes patrones de expresión durante el desarrollo y maduración de los frutos y en los tejidos analizados. Los genes que mostraron un aumento de su expresión en el estadio maduro resultaron ser reprimidos por auxina. No

se observó un efecto concluyente de etileno en la expresión de los genes candidatos, mostrando diferentes patrones de expresión. Dentro de los genes que fueron seleccionados para un análisis posterior, se aislaron secuencias que mostraron homología con acuaporinas de dos diferentes familias. Estos genes mostraron un patrón diferencial de expresión durante el desarrollo, como al efecto de auxina y etileno en la abundancia de sus transcritos. Además se analizó el efecto de la temperatura en la expresión de sus transcritos, observándose que dos de las tres acuaporinas analizadas mantienen altos sus niveles de transcritos en frutos mantenidos a 4 °C En resumen, se identificaron ESTs que se expresan diferencialmente durante el proceso de desarrollo y maduración de los frutos de *F. chiloensis*. Las hormonas, como en este caso auxina, juegan un papel clave en la regulación de este proceso. Los ESTs generados de las bibliotecas SSH contribuyen al conocimiento de la maduración de los frutos de la frutilla blanca chilena.

ABSTRACT

The white Chilean strawberry, *Fragaria chiloensis*, presents valuable traits that would allow its positioning within the fruit offer as an export product. For this purpose, it is necessary to know different aspects of this crop, being the most important the fruit development and ripening and postharvest physiology. Numerous studies in *Fragaria* species aim of to study the ripening process and gene expression associated with this event. Nevertheless, one conclusion reached is that this expression pattern varies among species and even between cultivars. Because of this, the main objective of this thesis was to identify genes differentially expressed in different stages of development and ripening of *F. chiloensis* fruits, through the construction of SSH libraries, and then, to select those related to softening and ripening, studying its expression patterns during the development and analyzing its behaviour in fruits treated with auxin and ethylene. Considering the six libraries generated, a total of 1807 ESTs were sequenced, 87,16% of which were informative. The identification of their putative function was performed by the BLASTN algorithm in different public databases and they were classified into functional categories according to the Functional Catalogue (FunCat). Selection of genes to analyze its expression by qPCR was performed according to its putative function and its relation, direct or indirect, with fruit ripening and softening. Thus, genes related to hormonal regulation, transcription factors involved in maturation, and genes encoding for enzymes associated with the degradation of cell wall polysaccharides were selected. The selected genes showed different expression patterns during fruit development and ripening process and in the analyzed tissues. Genes that showed an increase of its expression in ripe fruit were suppressed by auxin. No conclusive effect of ethylene was observed. Since the genes showed different expression patterns. Within the genes that were selected for further analysis, sequences that showed homology with aquaporins of two different families were isolated. These genes showed a differential expression during fruit development, and different responses to treatment with auxin and ethylene. In addition, the effect of temperature on the expression of these genes was analyzed. Two of the three aquaporin genes maintain high transcript levels when fruits were kept at 4 °C. In conclusion, differentially expressed ESTs were identified during the development and ripening of *F. chiloensis* fruits. In this case, auxin play a key

role in regulating this process. The ESTs from SSH libraries, contributes to the knowledge of the fruit ripening of white Chilean strawberry.