

## INDICE

INTRODUCCION GENERAL	1
1. FORMULACIÓN DEL MARCO TEÓRICO	2
2. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS	4
2.1 La frutilla chilena	4
2.2 Frutilla silvestre	5
2.3 Maduración de fruto	6
2.4 Pared celular	7
2.5 Xiloglucanos	8
2.6 Estructura de los xiloglucanos	9
2.7 Xiloglucano endotransglicosilasa/hidrolasa (XTH)	10
2.8 Estructura y función de XTH	11
2.9 Regulación hormonal	13
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
FORMULACIÓN DE LA HIPÓPTESIS	15
OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS	15
Objetivo general	15
Objetivos específicos	15

## CAPITULO I

### **Caracterización de dos cDNAs divergentes que codifican para xiloglucano endotransglicosilasa/hidrolasa (XTH) expresados en *Fragaria chiloensis***

1. INTRODUCCION	17
2. MATERIALES Y MÉTODOS	19
2.1 Material Vegetal	19
2.2 Determinación de firmeza	19
2.3 Obtención de las secuencias parciales de XTH en <i>Fragaria chiloensis</i>	19
2.4 Obtención de los cDNAs de largo completo de FcXTH1 y FcXTH2	21
2.5 Hibridacion Southern	24

2.6	Análisis de expresión por PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR)	27
2.7	Inmunodetección y actividad enzimática de XTH	28
2.8	Análisis estadístico	31
3.	RESULTADOS Y DISCUSION	32
3.1	Maduración de fruto	32
3.2	Obtención de las secuencias de largo completo de FcXTH1 y FcXTH2	34
3.3	Análisis filogenético	43
3.4	Modelamiento por homología de FcXTH1 y FcXTH2	45
3.5	Análisis de DNA genómico	50
3.6	Análisis de expresión de los genes XTH de <i>F. chiloensis</i>	51
3.7	Inmunodetección y actividad de XTH en <i>Fragaria chiloensis</i>	54
4.	CONCLUSIONES	58

## CAPITULO II

### **Modulación de la expresión génica de las isoformas *FcXTH1* y *FcXTH2* por tratamientos hormonales y análisis *in silico* de sus promotores.**

1.	INTRODUCCION	60
2.	MATERIALES Y METODO	62
2.1	Material vegetal	62
2.2	Tratamientos Hormonales	62
2.3	Extracción de DNA genómico	64
2.4	Obtención de los promotores de <i>FcXTH1</i> y <i>FcXTH2</i>	64
2.5	Análisis bioinformáticas	66
2.6	Análisis de expresión de FcXTH1 y FcXTH2 por PCR en tiempo real	66
2.7	Análisis estadístico	67
3.	RESULTADOS Y DISCUSION	68
3.1	Tratamientos hormonales	68
3.2	Clonamiento y caracterización <i>in silico</i> de las secuencias promotoras de los genes <i>FcXTH1</i> y <i>FcXTH2</i>	76
4.	CONCLUSIONES	80

## **CAPITULO III**

### **Análisis bioinformático de las secuencias que codifican para XTH en *Fragaria vesca* y sus perfiles de expresión durante la maduración de fruto.**

1. INTRODUCCION	82
2. MATERIALES Y METODO	88
2.1 Material vegetal	88
2.2 Análisis de expresión por PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR)	88
2.3 Identificación y análisis de los genes XTH en <i>Fragaria vesca</i>	91
2.4 Análisis filogenético	92
2.5 Alineamiento de secuencias	92
3. RESULTADOS Y DISCUSION	93
3.1 Estadios de maduración de <i>Fragaria vesca</i>	93
3.2 Identificación de las secuencias que codifican para XTH en <i>F. vesca</i>	93
3.3 Análisis de expresión de los genes XTH identificados en <i>Fragaria vesca</i>	106
4. CONCLUSIONES	117
CONCLUSIONES GENERALES	118
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	123
ANEXO I	139

## ABREVIATURAS

1-MCP: 1-metilciclopropeno

ABA: Acido Absícico

ANA: Acido naftalén acético

b-Gal: b-Galactosidasa

CTAB: Bromuro de cetilmetilamonio

DMSO: dimetil sulfóxido

DNA: Acido desoxirribonucleico

DTT: Ditiotreitól

EDTA: Acido etilendiaminotetraacético

EGasa: Endoglucanasa

Exp: Expansinas

GA3: Acido giberelico

GAPDH: gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa

GH: Glicosil Hidrolasa

IPTG: Isopropil-beta-tiogalactopiranósido

NaF: Floruro de Sodio

PG: Poligalacturonasa

PME: Pectinmetilesterasa

PMSF: fenilmetilsulfonilo

PVP: polivinilpirrolidona

RACE: Amplificación rápida de extremos de cDNA

RNA: Acido Ribonucleico

X-GAL: 5-bromo-4-cloro-indol-b-D-galactósido

XEH: Xiloglucano hidrolasa

XET: Xiloglucano endotransglicosilasa

XG: Xiloglucano

XGO: xilogluco-oligosacàrido

XTH: Xiloglucano endotransglicosilasa/hidrolas