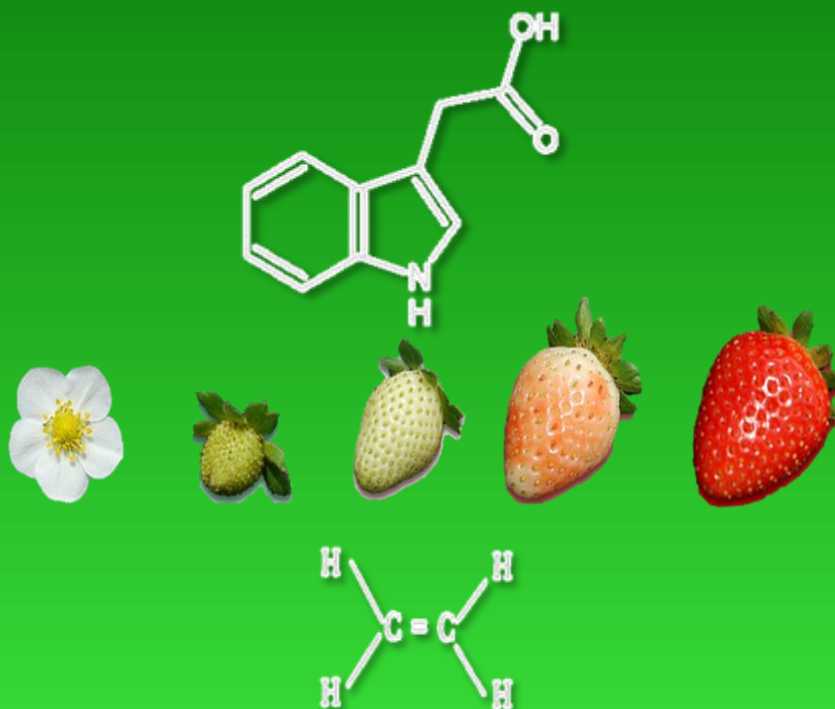


CONTROL HORMONAL DEL DESARROLLO DEL FRUTO DE FRESA *FRAGARIA* × *ANANASSA*

Tesis Doctoral 2015

Elizabeth Estrada Johnson



Departamento de Biología Molecular y Bioquímica
Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga

UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



CONTROL HORMONAL DEL DESARROLLO DEL FRUTO DE FRESA *FRAGARIA* × *ANANASSA*

Tesis Doctoral

Elizabeth Estrada Johnson

Departamento de Biología Molecular y Bioquímica

Facultad de Ciencias

Universidad de Málaga, Noviembre 2015



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTOR: Elizabeth Estrada Johnson

 <http://orcid.org/0000-0002-4207-6746>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es

UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOQUÍMICA

DR. VICTORIANO VALPUESTA FERNÁNDEZ, Catedrático del Departamento de Biología Molecular y Bioquímica de la Universidad de Málaga.

DRA. SONIA OSORIO ALGAR Investigadora Ramón y Cajal en el Departamento de Biología Molecular y Bioquímica de la Universidad de Málaga.

INFORMAN: que Dña Elizabeth Estrada Johnson ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo e investigación correspondiente a la elaboración de la presente Memoria de Tesis Doctoral.

Y para que así conste, y tenga los efectos que correspondan, en cumplimiento con la legislación vigente, **autorizamos** la presentación de esta Tesis Doctoral en la Universidad de Málaga.

Málaga a 27 de Julio de 2015

Fdo: Dr. Victoriano Valpuesta Fernández

Fdo: Dra. Sonia Osorio Algar



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Este trabajo ha sido subvencionado por el Proyecto BIO2010-15630, beca de Formación del Personal Investigador (FPI) BES-2011-048461, del Ministerio de Economía y Competitividad.

UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

A mí Familia



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Agradecimientos

Parece increíble que esté a punto de entregar mi Tesis Doctoral, un sueño que no hubiera sido posible sin el apoyo, la ayuda y la gran compañía de todas aquellas personas que han estado conmigo a lo largo de este tiempo.

Ante todo, quiero agradecer a mi Director de Tesis, Vito por darme la oportunidad de cumplir este sueño, por su comprensión y por darme ánimo en estos años tanto a nivel científico como personal. Por su trato gentil y cercano. Por sus grandes decisiones y por compartir su experiencia y conocimientos científicos conmigo.

Y a mi codirectora Sonia, por darme ánimos para no rendirme, por buscar soluciones y aportarme una perspectiva diferente, por su entusiasmo, por sus consejos científicos y por la gran dedicación que brinda a la ciencia.

A Miguel Ángel, por su aportación, por su ayuda a mostrarme cómo funciona el CLC. Por todas sus grandes ideas y por esa pasión que tiene por la ciencia.

Al centro IFAPA de Churriana, por facilitarme las instalaciones y su buena disposición, en especial a Iri y a Pepe Sevilla por su ayuda y aportación en este trabajo.

*También agradezco al grupo de Fernando Pliego y su Departamento de Fisiología Vegetal, por su amabilidad, buena disposición y por su ayuda. A Lara, que me explicó y ayudó en la realización del cultivo *in vitro*.*

Al laboratorio de José Alonso y a su equipo en NCSU. A Anna, a Javi, por estar a mi lado en los experimentos, y a Linda con la que degusté comida mexicana y compartimos grandes momentos. En general, durante mi estancia la experiencia y el trato fueron maravillosos. Gracias a todos.

A Eduardo y a Araceli, que son un gran ejemplo para las ciencias. Les doy las gracias por compartir estos años, por su apoyo y por su gran experiencia. A David, por su visión científica y por tener ese carisma tan alegre que impulsa a seguir adelante. A Carmen, aunque he convivido poco ella, ha sido muy agradable contar con su presencia. A José, por sus consejos y ayuda en varios protocolos, por las pláticas emocionantes acerca de sus aventuras en moto, por lo afín en comer picante y por su apoyo.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, a Delphine, Begoña, Fran, Amalia, Eva, Blanca, Pepe, Miguel, Miguelito, Ana Luna, Álvaro Piedra, Álvaro García, Abel y a Adriana, la verdad que no me imagino este proceso sin su apoyo, su compañía, su entusiasmo y por los momentos que compartimos fuera del laboratorio. A Katrín, Sophia y Yulia, su estancia aquí fue enriquecedora

tanto científica como personal. A Vitor y a su familia, por esos cafés después de comer y por estar atento a mi trabajo y contar siempre con su ayuda. A Alí, que conoce varios secretos del laboratorio, y es una gran persona que hace agradable la convivencia en el laboratorio. A Karen porque cuento con su apoyo desde mi estancia en Raleigh, por las aventuras estadounidenses y esa amistad que sigue hasta el momento. A Jessi, esa gran persona con la que compartí muchas emociones, por su ayuda en todo momento, por tender siempre una mano en el laboratorio, por contagiar su gran entusiasmo tanto en la vida como en la ciencia y por su valiosa amistad.

A los que ya no están en el laboratorio. A Paquí, que tantos “tesitos” y charlas compartimos, por su energía, por su ayuda en el laboratorio en los primeros años de tesis y por sus consejos de la vida que me alentaban para continuar. A Irene, quien estuvo conmigo en los inicios en el laboratorio. A Verito y a Ian, a los que echo mucho de menos por su gran empatía, su disponibilidad para ayudar y su amistad. A mi paisanito Edgar, que me animaba con un oportuno refrán. A Ana Casañal, por su gran ánimo y comprensión en el laboratorio. A Tábata, por su gran ayuda en esta aventura, por su amistad, su inigualable risa y sus ánimos para seguir adelante. A Abel, por comprender y compartir la cultura mexicana, porque es de las personas que encuentra prontas soluciones tanto científicas como personales que te ayudan a continuar con ilusión. A Natasa, Manolo, Naoufal, Mau y a Humberto, gracias por su entusiasmo, por su ayuda y por su humor que hacía brotar una sonrisa que relajaba el ambiente del laboratorio.

A mi amigo Manuel, le doy las gracias por recordarme quien soy, guiarme y compartir experiencias. A todos mis amigos “toltecas” y “shíbumís”, gracias por ese impulso para continuar y por su punto de vista acerca de la vida.

A Mike, ¿qué sería de mí sin sus sabios consejos, sin su opinión, sin su alegría?: Gracias por esa amistad, me has ayudado e impulsado a cumplir este sueño a pesar de la distancia, te quiero mucho.

A mis amigos de México: Memo, Iván, Gabby, Diego, con los que a pesar de la distancia nuestra amistad sigue, gracias por los momentos, mensajes y apoyo. A Marco, por saber cómo poner una sonrisa en mi rostro, por sus palabras de aliento y por sus detalles para animarme. Y a mi mejor amigo Eddy: gracias por esas grandes y “locas” aventuras, por tu apoyo y por tu cariño, eres como un hermano para mí. Te quiero mucho.

A mi familia Johnson. A mi tío Cano, por su cariño y comprensión. A mi tío Beto por su apoyo y por presentarme su ciudad de New York: fue maravilloso volverte a ver después de 8 años. Gracias por estar pendiente de mí desde que pise España por primera vez y en cada viaje. A mi tía Aydee, que siempre encuentran las palabras para hacerme reír, por su cariño y por su apoyo. A mi tía Chíta, por su carisma y sus ánimos. A mi tía Lucy, por creer en mí y por su

infinito apoyo. Y a mis primos y primas: Canito, Elisa, Arturo, Janeth, Miriam y el pequeño gran Artur, gracias a ustedes por su amor y su comprensión. Los quiero.

A mi familia Estrada. A mi tío Lauro y a mis tías Mela y Conchís, por su gran apoyo y por sus oraciones dedicadas a mí. A mi Tía Chela, a mis primos y primas Karina y Laurita, gracias por su gran ánimo, su cariño y por los buenos momentos que hemos pasado juntas. Los quiero.

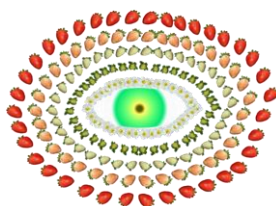
A mi familia Española Muñoz-Ávila. A Rogelia, Manuel, Mari Luz, Alberto, María Pablo, Emilia, María Jesús y Paula, gracias por recibirme como una integrante más en su familia, por esa calidad humana y ese cariño, gracias.

A Julio Carlos (nene): gracias por tu apoyo, tus cuidados, tu paciencia y tu amor, este es el segundo sueño en el que estás a mi lado y por eso, gracias.

A mi hermano David, por mostrarme que si quieres algo debes luchar por ello, gracias por tus sabias palabras, por tu apoyo y comprensión. Te quiero mucho.

A mi padre Guillermo, por su especial apoyo en esta última etapa: gracias por tus enseñanzas, por ser mi maestro de la vida y por tu cariño, te amo papá.

Y a una persona especial a la que dedico todo este trabajo, mi madre: no tengo palabras para agradecerte, siempre has estado ahí en todos los momentos a pesar de la distancia, por ser mi confidente y mi brazo derecho, alcanzar este logro es gracias a tus enseñanzas, tu dedicación y tu gran amor. Te amo, mamá.





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Índice

- Introducción General	5
- Objetivos	29
- Capítulo 1: Estudio de la auxina en el desarrollo de los frutos de fresa <i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i>	31
• Materiales y Métodos	32
• Resultados	51
• Discusión de Resultados	75
- Capítulo 2: Análisis transcriptómico para el estudio del etileno en plantas de fresa insensibles a esta hormona	83
• Materiales y Métodos	84
• Resultados	86
• Discusión de Resultados	105
- Conclusiones	121
- Referencias	123
- Summary	141
- Conclusions	156
- Anexos	157



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Introducción General

La fresa

La fresa cultivada (*Fragaria* × *ananassa*) es de los cultivos de pequeñas bayas más consumidos en el mundo. La producción mundial de fresa en el año 2013 fue de más de 7 millones (7 739 622) de toneladas, con un rendimiento de 21 400 Hg/Ha (<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>). España cuenta con una producción de 312 500 toneladas y un rendimiento del 390 625 Hg/Ha en el año 2013, siendo la principal abastecedora de la Unión Europea durante los primeros meses del año. La provincia de la que proviene más del 90 % de la producción de fresa en España es Huelva, que cuenta con una superficie de cultivo que oscila entre 6 000 y 7 000 hectáreas (FAOSTAT; López, 2008).

Por las propiedades organolépticas que le aportan su aroma y su sabor característico, convierten a la fresa en la principal baya que se consume popularmente a nivel mundial, no sólo en las formas frescas y congeladas, sino también como productos procesados y derivados, incluyendo yogures, bebidas, mermeladas y jaleas (Giampieri *et al.*, 2015). Son una fuente rica de una amplia variedad de compuestos nutritivos como azúcares, vitaminas (alto contenido en vitamina C) y minerales, así como compuestos bioactivos tales como folatos, flavonoides, antocianinas, ácidos fenólicos y taninos hidrolizables (elagitaninos y galotaninos). En los últimos años se han estudiado los efectos protectores del consumo de fresa y su repercusión en la salud humana, pues participan en una amplia gama de actividades biológicas que ayudan en la prevención de la inflamación, las enfermedades cardiovasculares, la obesidad, el síndrome metabólico, diferentes tipos de cáncer e incluso enfermedades neurológicas (Seeram *et al.*, 2008; Giampieri *et al.*, 2012, Giampieri *et al.*, 2015).

La fresa pertenece al orden *Rosales*, familia *Rosaceae*, subfamilia *Rosoideae* y género *Fragaria*. Hay un número limitado de especies silvestres en el género *Fragaria*, cercanas a 22, que incluyen desde especies diploides hasta decaploides (Rousseau-Gueutin *et al.*, 2009). Estudios moleculares basados en la historia de este género, revelaron que la poliploidización e hibridación dentro del género *Fragaria* ayudaron a su evolución. Estudios en el proceso de alopoloidización de las especies octoploides *F. virginiana*, *F. chiloensis* y la fresa cultivada (*F.* × *ananassa*) muestran que comparten

un genoma común, apoyando que *F. vesca* y *F. mandshurica* sean los donantes maternos, mientras que *F. iinumae* actúe como el donador paterno (Rousseau-Gueutin *et al.*, 2009). Sin embargo, estudios recientes del origen evolutivo y dinámico de la fresa *F. × ananassa* mediante POLiMAPS (*Phylogenetics Of Linkage-Map-Anchored Polyploid Subgenomes*) mostraron que, al contrario con el modelo aceptado, sugieren que uno de los cuatro subgenomas se origina con : los donantes diploides *F. vesca*, *F. iinumae*, y dos con un antepasado desconocido cerca de *F. iinumae* (Tennessen *et al.*, 2014). La amplia introgresión unidireccional ha convertido a que los subgenomas de *F. iinumae* sean más parecidos con *F. vesca*, pero nunca al revés, ya sea debido a la hibridación homoploide en los ancestros diploides de *F. iinumae*, o bien otra fuerte selección entre la secuencia de subgenomas de *F. vesca* mediante el intercambio homólogo (Tennessen *et al.*, 2014). La fresa silvestre también llamada *Fragaria vesca* es diploide, con una dotación básica de 7 cromosomas, por lo que la hace una especie modelo de la familia *Rosaceae*, junto con el melocotón y la manzana (Shulaev *et al.*, 2008). La fresa cultivada *F. × ananassa* es octoploide con 56 cromosomas. El primer híbrido que se conoce, data de mediados de 1700 en el *Royal Botanical Garden* de Francia (Hancock, 1999). El cruce fue accidental entre dos especies octoploides, *F. chilensis*, proveniente de Chile y con un fruto de gran tamaño, y el polen de *F. virginiana* proveniente de Canadá, cuyo fruto se destaca por su delicado sabor (Hummer *et al.*, 2009). A partir de esta primera generación, se han producido varias hibridaciones entre los parentales y descendientes. Esto ha conferido, a través del tiempo, a *F. × ananassa* características diversas, que hacen de ella una especie variable y altamente heterocigótica, capaz de adaptarse a diferentes condiciones ambientales. Gracias a esto, la fresa cultivada ha tomado una gran importancia en diversos lugares del mundo (Hancock, 1999).

Anatomía y morfología del fruto de fresa

La fresa cultivada (*F. × ananassa*), es una planta angiosperma, dicotiledónea, y presenta un follaje herbáceo, con porte perenne y de bajo crecimiento (López, 2008). Se multiplica vegetativamente a base de estolones, los cuales presentan dos nodos. Las plantas hijas se generan a partir del segundo nodo, mientras que el primero queda en estado latente, o desarrolla otro estolón (Hancock, 1999). La fresa cultivada llega a generar desde 10 hasta 15 estolones produciendo hasta 100 plantas hijas, que llegan a ser independientes después de 2 a 3 semanas (Hancock, 1999; López, 2008). El tallo central, o corona, está cubierto por hojas basales. Los tallos que presentan inflorescencia se les denomina: escapos florales. Estas inflorescencias son tallos

modificados que en su parte final muestran la floración primaria. La flor típica es hermafrodita aunque también puede fecundarse por polen de flores de otros individuos de la misma especie; tiene 10 sépalos, cinco pétalos (algunas variedades presentan 6), y 20 a 30 estambres (Hancock, 1999). La fecundación de cada óvulo forma el fruto, que es de tipo aquenio.

Los aquenios son los verdaderos frutos de la fresa, es por esto que se dice que la fresa es un falso fruto. Lo que se conoce como fruto es en realidad el receptáculo floral (base de la flor) engrosado junto con los aquenios que se encuentran anclados en su superficie. Cuando los aquenios llegan a su estado maduro se pueden distinguir las partes que lo conforman, como son: el pericarpo, la testa, el endospermo y el embrión (Perkins–Veazie, 1995). El receptáculo está conformado por varias partes, una medula ubicada en el centro, un cór ex carnoso, una epidermis, donde se encuentran distribuidos los aquenios y un conjunto de haces vasculares que conectan el receptáculo con los aquenios (Figura 1) (Perkins-Veazie *et al.*, 1995; Hancock, 1999).

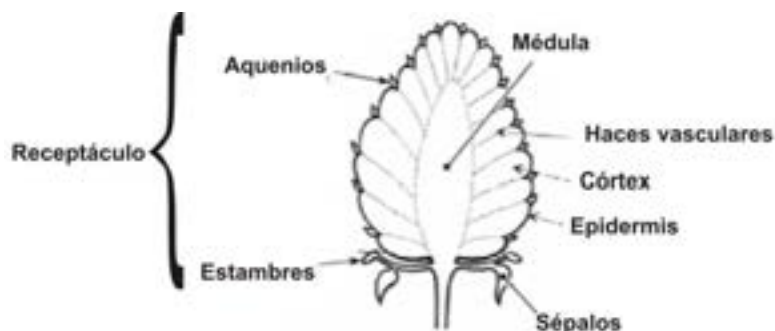


Figura 1: Morfología del fruto de fresa (adaptado de Hancock, 1999).

Maduración del fruto de fresa

En el proceso de desarrollo del fruto de fresa se han establecido diferentes estadios de maduración basados inicialmente en el cambio de pigmentación externa que presenta la fresa. Es muy importante la temperatura, ya que de ella depende el desarrollo del fruto y su maduración, que se produce de 30 a 40 días después de la antesis (Figura 2) (de la Fuente *et al.*, 2006). Los estadios que fueron considerados en la presente Tesis Doctoral fueron: fruto verde (receptáculo verde y aquenio verde,

aproximadamente 12 días después de la antesis), fruto blanco (receptáculo blanco y achenio verde-café, aproximadamente 21 días después de la antesis), fruto intermedio (receptáculo blanco-rojo y achenio café-rojo, aproximadamente 29 días después de la antesis) y fruto rojo (receptáculo y achenio rojo, aproximadamente 35 días después de la antesis).

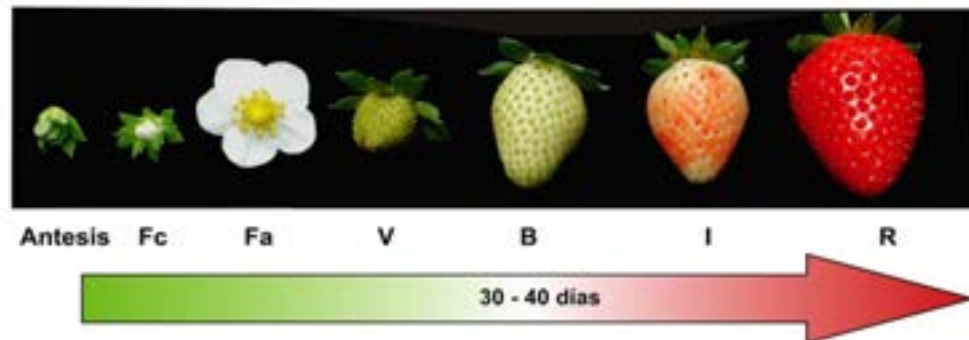


Figura 2. Estadios de desarrollo y maduración del fruto de la fresa. Frutos de la fresa cv. Camarosa en diferentes estadios, Fc: flor cerrada; Fa: flor abierta; V: fruto verde; B: fruto blanco; I: fruto intermedio y R: fruto rojo.

En el proceso de maduración del fruto de la fresa se suceden diversos cambios celulares y bioquímicos. En el receptáculo, inicialmente se produce la división celular, que ocurre en los primeros 10 a 15 días después de la antesis, seguida de la elongación celular, la cual representa la mayor parte del crecimiento del fruto (de la Fuente *et al.*, 2006). Conforme el receptáculo va madurando, se observan cambios en la textura, asociados con el metabolismo de la pared celular y, cambios metabólicos, como a la acumulación de azúcares, ácidos, polifenoles, pigmentos y compuestos volátiles (Hancock, 2000; Gapper *et al.*, 2013).

La concentración de sólidos solubles, que incluyen los azúcares, los ácidos y otros compuestos orgánicos, varía desde un 5 % en el fruto verde, a un 7 % en el fruto maduro. Los azúcares contienen un 80 a 90 % de glucosa y de fructosa, y el resto es fundamentalmente sacarosa (Perkins-Veazie, 1995). El contenido de antocianinas y otros flavonoides va variando durante el proceso de maduración del fruto: en el estadio blanco empieza la aparición de antocianinas, que siguen incrementándose hasta su mayor contenido en el fruto rojo (Jia *et al.*, 2011). Durante la maduración, también se producen cambios en la producción de volátiles y compuestos nitrogenados (Perkins-Veazie, 1995; Hancock, 2000, Zorrilla-Fontanesi *et al.*, 2012).

Regulación hormonal en el fruto de fresa

Auxina

La hormona vegetal llamada auxina (ácido indol-3-acético, IAA) regula prácticamente todos los aspectos del crecimiento de las plantas y el desarrollo. Dependiendo de su localización, la auxina promueve procesos como la organogénesis, la división y elongación celular, así como el crecimiento, desarrollo y maduración de frutos. Sin embargo, los mecanismos por los que la auxina regula estos procesos no se conocen en todos los casos (Teale *et al.*, 2006; Benjamin y Scheres, 2008; Pattison *et al.*, 2014).

En los estudios realizados en 1950 por Nitsch, demostraron que el crecimiento del receptáculo de fresa está regulado por la auxina, la cual es sintetizada en los aquenios (Nitsch, 1950).

Los primeros estudios sobre el contenido de la auxina en los frutos de fresa fueron hechos por Archbold y Dennis (1984), cuyos resultados indicaron que en el estadio de antesis los niveles de IAA ascendían a 6.2 µg/g de peso seco, mientras que en los aquenios a los 14 días después de la antesis este valor se redujo aproximadamente a la mitad (3.1 µg/g de peso seco). Por otro lado, en el receptáculo a esta misma edad los niveles son de 2.8 µg/g de peso seco (Archbold y Dennis, 1984). Recientemente, los estudios de Symons *et al.*, (2012), muestran que los niveles de IAA en *F. × ananassa* fueron bajos durante la floración, aunque estos niveles aumentan rápidamente hasta el máximo nivel en estadio de fruto verde pequeño (12 días después de la antesis), disminuyendo posteriormente a medida que el fruto se desarrolla y madura.

Se ha demostrado que hay diversos genes que están relacionados con la maduración del fruto y que pueden estar regulados en su expresión por la auxina. En las investigaciones de Harpster *et al.* (1998), se mostró que el gen *FaCE1*, que codifica una endo-1,4-β-glucanasa (EGasa) relacionada con el reblandecimiento de la fresa, tiene una expresión regulada por auxina. La aplicación de auxina sintética, naftalen acético (NAA), produjo una disminución del nivel de ARNm mensajero de *FaCE1*, por el contrario al desaqueñizar los frutos el efecto fue el contrario. Por otro lado en este mismo estudio fue la primera vez que se postuló que la disminución de los niveles de la auxina a lo largo de la maduración correlaciona con la activación de la expresión de algunos genes relacionados con la maduración del fruto (Harpster, 1998). Un ejemplo de ello es el gen que codifica a la proteína pectato liasa (*FaPL*) ya

que al eliminar la fuente de auxina (desaqueñizado del fruto) se produce un aumento en la expresión de este gen, mientras que la aplicación de NAA, hace que su expresión disminuya (Medina-Escobar *et al.*, 1997). Esta acción de la auxina se ha relacionado con varios procesos que ocurren durante la maduración del fruto, y que están relacionados con defensa, pigmentación, biosíntesis de la pared celular, biosíntesis de compuestos de aroma y con el metabolismo de ácidos grasos. En el año 2002, se hizo un estudio de la expresión por *microarrays* de múltiples genes, cuyos resultados mostraron que 30 de los 45 genes involucrados en la maduración están regulados con auxinas; siendo 25 de ellos inducidos por auxinas (Aharoni, *et al.*, 2002).

Rutas de biosíntesis de auxinas

Los mecanismos de percepción y señalización de las auxinas, son importantes en la regulación del desarrollo y maduración de la fresa (*F. × ananassa*). Es por esto que el estudio de las rutas de biosíntesis de la auxina en la fresa, resulta de gran interés. Basados en estudios bioquímicos, se han descrito dos rutas generales en la biosíntesis de auxina, la ruta independiente de triptófano (Trp) y otra dependiente de triptófano (Normanly *et al.*, 1993). Estudios bioquímicos apoyan la existencia de la ruta Trp-independiente, que se ramifica desde la vía biosintética de L-Trp en el nivel de Indol-3-glicerol fosfato (IGP) (Ouyang *et al.*, 2000). Hay estudios que muestran que en la biosíntesis de Trp tiene lugar en los cloroplastos, donde las enzimas triptófano sintasa α (TSA) y triptófano sintasa β (TSB) forman un complejo y convierten al Indol glicosinolato (IG) a Trp (Ouyang *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2015). Estudios recientes muestran evidencia genética y bioquímica donde la enzima indol sintasa (INS) localizada en el citosol, es un componente clave e iniciador de la ruta de biosíntesis de auxina triptófano-independiente y es fundamental para la formación del eje apical-basal durante la embriogénesis temprana en *Arabidopsis* (Wang *et al.*, 2015). Aunque, aún no se conocen por completo estas vías, en *Arabidopsis* se han propuesto al menos 3 rutas interconectadas de biosíntesis de auxinas triptófano-dependientes, las cuales toma su nombre por el intermediario inmediato después del Trp y son: indol-3-acetaldoxima (IAOx), indol-3-acetamida (IAM), y el ácido indol-3-pirúvico (IPA) (Mashiguchi *et al.*, 2011; Brumos *et al.*, 2014; Tivendale *et al.*, 2014).

La primera, la ruta IAOx (Indole-3-acetaldoxima) en la que participan las enzimas citocromo P450 monooxigenasas, CYP79B2 y CYP79B3. Anteriormente, se

sugirió que IAOx era producido a partir de la vía triptamina TAM, teniendo como intermediario a la N-hidroxitriptamina (NHT), sin embargo, Sugawara *et al.*, (2009) y Nonhebel *et al.*, (2011) demostraron que las enzimas CYP79B2/3 eran responsables de la gran mayoría de la producción de IAOx en *Arabidopsis*. La expresión ectópica de cualquiera de los genes *CYP79B2* o *CYP79B3* de *Arabidopsis* en *Nicotiana tabacum*, resultó en la biosíntesis de IAOx. Los genes *superroot 1,2* (*SUR1* y *SUR2*) están involucrados en la producción de glucosinolatos indólicos (IG) a partir de IAOx. Al ser inactivados *SUR1* y *SUR2*, se interrumpe la biosíntesis de IG, provocando la acumulación de IAOx, aumentándose así la producción de IAA (Zhao *et al.*, 2010). Por otro lado, ensayos enzimáticos *in vitro*, indican que la enzima CYP71A13 es la responsable de la conversión de IAOx a indol-3-acetonitrilo (IAN) (Nafisi *et al.*, 2007). Un mecanismo propuesto en la conversión de IAN a IAA, es mediante las enzimas nitrilasas (NITs) (Bartel y Fink 1994). Sin embargo, hay estudios que muestran que IAN y las NITs no participan en la producción de IAA de una manera significativa, sino que desempeñan un papel predominante en el metabolismo de glucosinolatos, la homeostasis de la camalexina y la desintoxicación de cianuro (Su *et al.* 2011; Brumos *et al.*, 2014). Diversos estudios indican que la vía IAOx se limita a la *Brassicaceae* donde podría ser más importante para la producción de los glucosinolatos de indol que IAA (Sugawara *et al.*, 2009). La ruta de IAOx, probablemente no es la más importante para la biosíntesis de IAA en plantas, pues no se ha detectado en monocotiledóneas como arroz y maíz; además no se han identificado ortólogos de CYP79B2/B3 en estas especies (Figura 3) (Zhao, 2010).

La segunda ruta IAM (indol-3-acetamida) se pensaba que sólo estaba presente en bacterias, donde la enzima triptófano monooxigenasas (*iaaM*) convierte el Trp a IAM, mientras que la enzima indol-3-acetamida hidrolasa (*iaaH*) cataliza la síntesis de IAA a partir de IAM (Lehmann *et al.*, 2010). En el año 2003, Pollmann *et al.*, (2003) descubrieron la existencia de la ruta IAM en las plantas, lo que apoya a los estudios que han identificado al IAM como un compuesto endógeno en varias plantas (Pollmann *et al.*, 2003; Sugawara *et al.*, 2009). Estudios en *Arabidopsis* muestran que la producción de IAM, se produce a partir de IAOx, sin embargo, en otras especies como arroz, maíz y tabaco, no parece que sea así, pues carecen de homólogos de la enzima CYP79B2/3 y no cuentan con IAOx endógeno. Por lo tanto, se propone que en las especies distintas de *Arabidopsis* y sus parientes, el Trp sea convertido a IAM por la acción de las enzimas de tipo *iaaM* (Figura 3), después son convertidas en IAA por miembros de una familia de enzimas denominadas AMI1 (amidasa1) (Lehmann *et al.*, 2010). Se ha propuesto que la enzima AMI1 en *Arabidopsis*, y tabaco, sea

necesaria para la conversión de IAM a IAA (Pollmant et al, 2003). Estudios en semillas de guisante (*Pisum sativum* L.) han mostrado que el IAM no se convierte en IAA y que el IAM endógeno no es detectable por estar por debajo del límite de detección, (Figura 3) (Tivendale et al., 2012; Tivendale et al., 2014).

Estudios recientes han demostrado que la mayor obtención de IAA en plantas se produce a través de la tercera ruta IPA (indol-3-ácido pirúvico) (Mashiguchi et al., 2011; Stepanova et al., 2011; Won et al., 2011). A través del estudio de mutantes se ha demostrado que TAA1 (triptófano aminotransferasa de *Arabidopsis* 1) y sus homólogos TAR1 (triptófano aminotransferasa relacionada 1) y TAR2 (triptófano aminotransferasa relacionada 2) catalizan la reacción a partir de triptófano a IPA, jugando un papel importante en la biosíntesis de las auxinas.

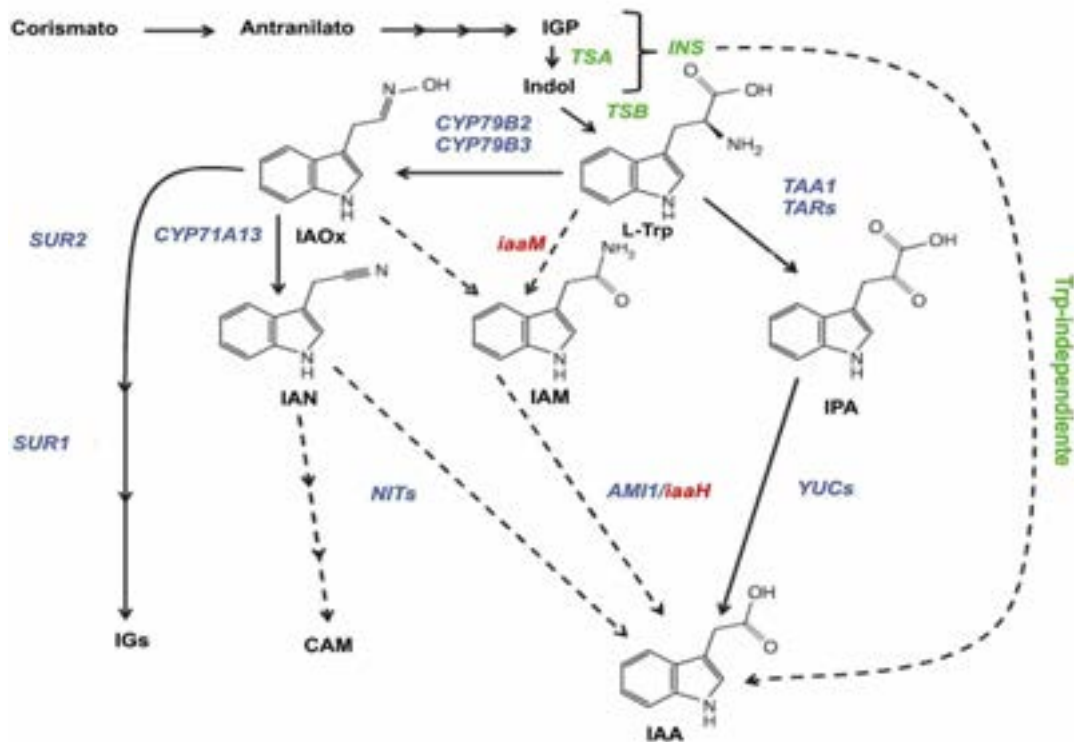


Figura 3. Rutas de Biosíntesis de la auxina en *Arabidopsis*. Los compuestos de interés para la síntesis de IAA se muestran en negro. Las flechas continuas indican los pasos bien caracterizados. Las flechas discontinuas señalan los pasos incompletos. Los genes que participan en la ruta Trp-independiente proveniente de IGP (indol-3-glicerol fosfato) se encuentra en verde. Los genes involucrados en la biosíntesis de la auxina Trp-dependientes se encuentran en azul, mientras que los genes bacterianos se muestran en rojo. IAOx (indol-3-acetaldoxima), IAM (indol-3-acetamida), IPA (ácido indol-3-pirúvico), TAA1/TARs (triptófano-aminotransferasas), YUCs (genes YUCCA flavin-monooxigenasas), CYP79B2 y CYP79B3 (citocromo P450), CYP71A13 (deshidratasa indoleacetaldoxime), NITs (nitrolasas), AMI1 (indol-3-acetamida hidrolasa); CYP83B1 (citocromo P450 monooxigenasas), SUR1 y SUR2 (superroot 1 y 2), UGT74B1 (UDP-glucosa: S-glucosiltransferasa tiohidroximato), iaaM (triptófano monooxigenasa), iaaH (indol-3-acetamida hidrolasa) IG (glucosinolatos de indol),

CAM (camalexina). (Adaptado de Brumos *et al.*, 2014).

Por otro lado, en *Arabidopsis* se ha mostrado que los genes *YUCCA* (*YUC*) tienen un papel clave en la biosíntesis de auxinas (Zhao, 2010), habiéndose identificado homólogos de estos genes en todos los genomas de plantas cuya secuencia es conocida. Por tanto, la ruta YUC está altamente conservada en todo el reino vegetal (Zhao, 2010). Se había propuesto que las proteínas TAA y YUC, requeridas para la biosíntesis de las auxinas durante el desarrollo de las plantas, actuaban en rutas independientes (Zhao, 2010; Lehmann *et al.*, 2010). Sin embargo, estudios recientes demuestran que las proteínas de la familia de TAA producen IPA y que las proteínas de la familia YUC, están involucradas en la conversión de IPA a IAA (Mashiguchi *et al.*, 2011). Simultáneamente, se mostró que los fenotipos de sobreexpresión de YUC dependen de los genes activos de TAA (Won *et al.*, 2011). Los análisis genéticos indicaron que los genes *TAA* y *YUC* están involucrados en la misma ruta de biosíntesis de las auxinas, situando a los genes *YUC* a continuación de los genes *TAA*. Los mutantes *yuc* acumulan IPA, y los mutantes *taa* son parcialmente deficientes de IPA (Won *et al.*, 2011). Estudios recientes sugieren que las reacciones enzimáticas implicadas en la producción de IAA, a través de la ruta IPA, son diferentes de las postuladas anteriormente y que pertenecen a la misma ruta de biosíntesis TAA1-YUC (Figura 3) (Stepanova *et al.*, 2011).

Señalización de auxinas

La señalización de las auxinas y la comprensión de los diversos procesos, se siguen investigando en la actualidad. Hasta el momento, se conocen tres receptores de las auxinas que son: *Auxin Binding Protein 1* (ABP1), *S-Phase Kinase-Associated Protein 2A* (SKP2A) y el SCF^{TIR1/AFBs}-Aux/IAA (*SKP-Cullin-F box [SCF]*, *TIR1/AFB [Transport Inhibitor Resistant1/Auxin Signaling F-Box]*, *Auxin/Indole Acetic Acid*) (Dharmasiri *et al.*, 2005; Jurado *et al.*, 2010; Calderón-Villalobos *et al.*, 2012; Peer 2013; Xu T *et al.*, 2014; Grones *et al.*, 2015).

El sistema mejor caracterizado es el SCF^{TIR1/AFBs}-Aux/IAA, el cual regula la transcripción dependiente de la auxina en el núcleo. La subunidad TIR1 está constituido por un dominio N-terminal tipo F-box, una región espaciadora de 40 residuos, 16 repeticiones ricas en leucinas (LRR) y un extremo C-terminal de 70 residuos aproximadamente. El complejo SCF (SKP1/Cullin /F-box) cuenta con 4 subunidades: CDC53 (CUL1), RBX, SKP1 (ASK1 en plantas) y proteínas con dominio F-box (Dharmasiri *et al.*, 2005; Mockaitis and Estelle, 2008). En CUL1 se acoplan las

subunidades restantes e interaccionan con la proteína SKP1/ASK1 (*S-phase kinase-associated protein 1*) que a su vez se une con F-box (Jurado *et al.*, 2010). Entre los seis TIR1/AFB que hay en *Arabidopsis*, TIR1 y AFB2, mostraron ser los reguladores positivos en la señalización de la auxina, mientras que AFB4 es un regulador negativo; AFB5 se une a la auxina y a la proteína IAA3 Aux/IAA, y por lo tanto, es probable que sea un receptor de la auxina (Dharmasiri *et al.*, 2005; Parry *et al.*, 2009; Greenham *et al.*, 2011; Peer, 2013). La auxina sirve como pegamento molecular entre la subunidad TIR1 del complejo ubiquitina ligasa SCF^{TIR1/AFBs}-Aux/IAA, la cual estimula la ubiquitinación de las proteínas Aux/IAA, para su posterior degradación en el proteosoma 26S (Tan *et al.*, 2007; Lau, 2008; Chapman y Estelle 2009). La degradación de las proteínas Aux/IAA permite la liberación de factores de transcripción con respuesta a la auxina (ARFs), regulando la transcripción de los genes con respuesta a la auxina (Gray, 2001; Benjamin y Scheres, 2008; Pattison *et al.*, 2014). En *Arabidopsis* hay 29 proteínas Aux/IAA y 23 ARF, de las cuales ARF5-ARF8 y ARF19 son activadores de la transcripción, mientras que ARF2-ARF4 y ARF9 han demostrado ser represores transcripcionales, con el resto de los ARF, se cree que son también represores (Guilfoyle *et al.*, 2007; Peer, 2013). En *Arabidopsis*, las proteínas Aux/IAA que tienen 4 dominios conservados, el dominio II sufre la ubiquitinación y los dominios III, IV son de dimerización, donde se reconocen los ARF y permiten la interacción entre los miembros de las dos familias de proteínas (Tiwari, *et al.*, 2001; Tiwari *et al.*, 2003). Los ARFs en *Arabidopsis*, que están compuestos de un dominio N-terminal de unión a DNA (DBD), se une a sitios de unión específicos llamados elementos de respuesta a auxinas. Estos elementos son típicamente representados por la secuencia TGTCTC, que también actúa como sitio de unión de las proteínas ARF (Ulmasov *et al.*, 1997; Guilfoyle y Hagen 2007). Estudios sobre la estructura secundaria de los dominios de III y IV de las proteínas ARF y IAA presentaron como las interacciones entre estos factores de transcripción pueden interactuar entre sí (Guilfoyle y Hagen 2012). Los resultados de este estudio, revelan que las proteínas IAA29, IAA31 y IAA32, así como ARF10, ARF14, ARF15, ARF16, ARF20 y ARF21 en *Arabidopsis* carecen del dominio PB1 (Dominio Phox y Bem 1) tipo I, pero contienen el dominio PB1 tipo II (tiene una lisina invariante situada en β 1). El dominio PB1 tipo II, generalmente contiene residuos básicos adicionales que intervienen en las interacciones con los dominios PB1 tipo I o de tipo I/II, permitiendo que las proteínas ARF y IAA puedan interactuar entre sí (Guilfoyle y Hagen 2012).

Recientes análisis en el genoma del tomate (*Solanum lycopersicum*), sugieren que hay al menos 3 *TIR1/AFB*, 25 *Aux/IAA* y 21 genes *ARF*, que proporcionan múltiples combinaciones posibles de isoformas y que podrían regular la respuesta a

auxina según el tipo de tejido o de etapa la de desarrollo (Kieffer *et al.* 2010; Wu *et al.* 2011; Audran-Delalande *et al.* 2012; Ben-Gera *et al.* 2012; Pattinson *et al.*, 2014). Estudios génicos sugieren que IAA9 y ARF7 en el tomate y ARF8 en *Arabidopsis*, están involucrados en la regulación de la producción de frutos y que actúan para restringir la expresión de genes de auxina antes de la polinización (de Jong *et al.*, 2009; Pattinson *et al.*, 2014).

La proteína ABP1 que ha sido identificada en base a su capacidad para unirse con la auxina, es una candidata ideal como el receptor extracelular, responsable de mediar los efectos de la auxina, en particular, los no transcripcionales. Los primeros estudios sobre la función de ABP1 usando modulación inmunológica con un anticuerpo anti-ABP1, demostraron que ABP1 está implicado en la regulación rápida de la membrana y en el flujo de iones de la membrana plasmática (Hayashi, 2012). Estudios genéticos contradictorios sugirieron que la proteína ABP1 no tenía ninguna importancia en muchos procesos de desarrollo (Gao *et al.* , 2015). Sin embargo, no se había abordado la función de la unión de ABP1 con la auxina. En estudios recientes se realizaron diferentes mutaciones (16 mutantes Abp1) que tenían sustituciones en el núcleo de metal o en los aminoácidos hidrófobos del sitio de unión a la auxina, así como mutaciones neutras. Los resultados revelaron que es un requisito que el sitio de unión a auxina este intacto para que la proteína ABP1 active los componentes de la vía de señalización ABP1 y para mediar la asociación clatrina, con la regulación de membranas de endocitosis (Grones *et al.*, 2015). Estos análisis mostraron una importancia del sitio de unión a la auxina para los procesos de desarrollo postembrionario mediados por ABP1, la morfología de las células epidérmicas de la hoja, el crecimiento, la actividad del meristemo de la raíz, y la diferenciación del tejido vascular. Tomados en conjunto, estos estudios sugieren que la unión a ABP1 a la auxina es fundamental para su función, apoyando el papel de ABP1 como receptor de auxinas. (Grones *et al.*, 2015). La ABP1 puede percibir niveles de la auxina exterior de la célula. Los estudios de modelización sugieren cómo el homodímero ABP1 puede unirse a la auxina. ABP1 fue mostrado para mediar la señalización de la auxina no transcripcional en las células del pavimento, las células de guarda y en la raíz. La proteína ABP1 media la señalización de la auxina no transcripcional, que se produce más rápidamente que las respuestas transcripcionales mediada por las proteínas F-box (Peer, 2013). También hay evidencia de que ABP1 puede mediar la expresión de los genes PLETHORA (PLT) y componentes de la fase G1/S, ya sea de forma independiente o vía SCF^{TIR1/AFBs}-Aux/IAA o SKP2A (Peer, 2013).

El receptor SKP2A es una proteína F-box que regula la proteólisis de los

factores de transcripción del ciclo celular. Estudios *in vitro* e *in vivo* demostraron que la auxina induce la degradación dependiente de la ubiquitina de SKP2A, sugiriendo que esta hormona actúa como una señal para activar la proteólisis de SKP2A (Jurado *et al.*, 2010). La capacidad de unión de la auxina con SKP2A fue confirmada por un experimento radiactivo de unión a IAA y un análisis mutando el sitio de unión a la auxina-SKP2A. Los resultados mostraron que la auxina regula la degradación de la proteína SKP2A, y también promueve la degradación de E2FC (*Adenovirus E2 promoter Binding Factor*) y DPB (*Dimerizing Protein*) para activar la división celular. La unión a SKP2A a la auxina podría regular estos procesos de degradación de proteínas. (Jurado *et al.*, 2010; Hayashi, 2012). La mutación en SKP2A conduce a un crecimiento de raíces resistentes a la auxina, sugiriendo que SKP2A es un regulador positivo de la respuesta a auxina. Los estudios genéticos muestran que SKP2A participa en la señalización auxina. Tomados en conjunto, estos datos indican que SKP2A conecta la respuesta a auxina con la división celular.

Etileno

El etileno es una hormona vegetal gaseosa asociada a numerosos procesos de desarrollo, como iniciación de raíces, desarrollo floral, elongación celular, germinación de la semilla, maduración del fruto, senescencia y respuestas al estrés biótico y abiótico, (Bleecker y Kende, 2000; Gapper *et al.*, 2013). Históricamente los frutos carnosos se han dividido en dos clases: frutos climatéricos y no climatéricos, basados en la función del etileno en la maduración. Los frutos climatéricos presentan un aumento en la respiración (normalmente medido por el incremento en producción de CO₂) y un aumento en la biosíntesis de etileno al inicio de la maduración (Gapper *et al.*, 2013), como es el caso de tomate, manzana, plátano y aguacate. Los frutos no climatéricos no muestran un aumento relevante en la respiración ni en la producción de etileno durante la maduración. Entre estos frutos se encuentran la uva, el pimiento y la fresa, (Giovannoni, 2004; Gapper *et al.*, 2013; Seymour *et al.*, 2013; Merchante *et al.*, 2013a). El fruto del tomate se ha empleado como modelo climatérico, no sólo para el control del desarrollo de la maduración, sino también para el estudio de la síntesis y percepción del etileno (Klee *et al.*, 2011).

Síntesis del Etileno

La síntesis de etileno en plantas es sintetizada a partir de la metionina y está altamente regulada. El primer paso de la biosíntesis, es la conversión de metionina a

s-adenosil-L-metionina (SAM), que a su vez se convierte a ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC), mediante la enzima ACC sintasa (ACS) (Adams y Yang 1979). El ACC se convierte posteriormente a etileno por la enzima ACC oxidasa (ACO), también llamada enzima formadora de etileno. Uno de los principales puntos de control de la biosíntesis del etileno, es en la regulación transcripcional de ACS (Rottmann *et al.*, 1991;. Barry *et al.*, 1996; Manning *et al.*, 2006; Gapper *et al.*, 2013).

En las plantas de tomate, se identificaron nueve genes que codifican ACS (*LeACS1A*, *LeACS1B* y *LeACS2-8*) y cuatro están expresados diferencialmente durante la maduración del fruto: *LeACS1A*, *LeACS2*, *LeACS4* y *LeACS6*. En el estudio llevado por Barry *et al.*, (1996) propusieron un modelo que explica la regulación diferencial de estos genes durante la producción de etileno en la maduración del fruto de tomate. El modelo considera dos fases: pre-climatérica (Sistema 1) y climatérica (Sistema 2), asociadas a diferentes miembros de la familia (Barry *et al.*, 2000; Cara y Giovannoni, 2008). Este modelo menciona que durante el desarrollo (Sistema 1, baja la concentración del etileno y se produce la autoinhibición) el etileno es sintetizado por el gen *LeACS1A*, 6 y *LeACO1*, 3,4. En la etapa de transición, el gen *LeACS4*, regulador de la maduración, es inducido y comienza el incremento en el proceso autocatalítico del etileno, dando lugar a una retroalimentación negativa sobre el sistema 1. En el tomate, se han identificado cinco genes que codifican a la enzima ACO y se denominaron como: *LeACO1-5*. Tres de ellos, el gen *LeACO1*, *LeACO3* y *LeACO4* han demostrado que se expresan diferencialmente en frutos. Los genes *LeACS2,4* y *LeACO1,4* son los responsables de la elevada producción de etileno a través del sistema 2 (Cara y Giovannoni, 2008). La expresión de los genes *LeACO1* y *LeACO4*, se produce principalmente en las etapas inmaduras o verdes y, sus niveles de expresión aumentaron dramáticamente en el inicio y durante la maduración. La expresión de *LeACO3* aumentó de forma transitoria en la etapa de cambio (*breaker*), mientras que la expresión de los genes *LeACO1* y *LeACO4* se mantuvo durante la maduración. Experimentos con un inhibidor de etileno 1-metilciclopropeno (1-MCP), mostraron que la expresión de los genes *LeACO1* y *LeACO4* son dependientes de etileno (Cara y Giovannoni, 2008).

La fresa se ha clasificado como un fruto no climatérico, debido a que no existe un aumento drástico en la tasa de respiración y en la producción de la hormona etileno que desencadene el proceso de maduración. Se ha mostrado que los aquenios producen el 50% del etileno que se detecta en el fruto maduro (Iannetta *et al.*, 2006). En los estadios verde y blanco se produce una disminución del etileno, y en el fruto rojo hay un incremento de la producción de éste (Trainotti *et al.*, 2005). Por otro lado la fresa cultivada, se han identificado genes ACO (*FaACO1* y *FaACO2*), siendo

estudiada su expresión durante la maduración, así como su respuesta a diferentes tratamientos hormonales (Trainotti *et al.*, 2005). Interesantemente, el análisis de las secuencias de proteínas, mostraron la agrupación de *FaACS1* con *SIACS2* y *SIACS4*, lo que indica un cierto paralelismo entre la maduración en el receptáculo de la fresa y el fruto del tomate (Merchante *et al.*, 2013a). Algunos de estos genes en tomate están asociados con la producción temprana de etileno (*SIACS1a* y *SIACS6*), mientras que otros están asociados con la producción climatérica de esta hormona (*SIACS2* y *SIACS4*) (Cara y Giovannoni, 2008).

Señalización del etileno

En *Arabidopsis*, se han identificado cinco receptores de etileno: *ETR1* (*Ethylene Response 1*), *ETR2*, *ERS1* (*Ethylene Response Sensor 1*), *ERS2* y *EIN4* (*Ethylene Insensitive 4*). Todos ellos muestran similitud con dos sensores de histidina quinasa de bacterias, y residen predominantemente en la membrana del retículo endoplasmático (ER). Estos receptores se encuentran en todas las plantas examinadas, incluyendo monocotiledóneas, dicotiledóneas y musgos (Merchante *et al.*, 2013b). Los receptores de etileno se han clasificado en dos subfamilias dependiendo de la estructura del péptido. A la subfamilia 1 pertenecen miembros *ETR1* y *ERS1*, los cuales contienen tres dominios de N-terminal en la membrana y, el dominio conservado de histidina quinasa. En la subfamilia 2, se encuentran *ETR2*, *ERS2* y *EIN4*, éstos poseen un dominio transmembrana adicional y el dominio quinasa, carecen de uno o más de los subdominios catalíticos, incluyendo la histidina que se autofosforila (*ETR2*, *ERS2*). La actividad quinasa de *ETR1* afecta la interacción entre *ETR1* y *EIN2*, apoyando que tiene un papel en la captación del dominio quinasa del receptor. Así, el papel de la actividad histidina quinasa sigue siendo objeto de debate debido a la falta de residuos que se cree que son esenciales para su actividad en la subfamilia 2 y, debido a un estudio, donde un *ERS1*: doble mutante *etr1-1* fue complementado con una forma histidina quinasa inactivada de *ETR1* (Merchante *et al.*, 2013b; .Yang *et al.*, 2015).

En *Arabidopsis*, el etileno es detectado por una familia de receptores localizados en el retículo endoplasmático (ER), que regulan negativamente la vía de señalización (Chang *et al.*, 1993; Hua *et al.*, 1995; Hua y Meyerowitz, 1998; Sakai *et al.*, 1998). Esta unión, conduce a que los receptores se inactiven, al igual que la proteína CTR1 (*Constitutive Triple Response 1*) de tipo serina/treonina quinasa RAF.

Al ser inactivada la proteína CTR1, da como resultado la desfosforilación de EIN2 (*Ethylene Insensitive 2*), que a su vez provoca la escisión del fragmento C-terminal de EIN2 (*CEND*). Esta división, permite que CEND sea transportado al núcleo, para la activación transcripcional del EIN3/EIL1 (*Ethylene Insensitive 3/EIN3-Like 1*) que funcionan como factores de transcripción esenciales para inducir la expresión de *ERF1* (*Ethylene-Response-Factor 1*) y otros genes con respuesta a etileno. Además, EIN2 y EIN3/EIL1 están regulados por la degradación proteasomal mediante las proteínas ETP1/2 (*EIN2 Targetin Protein 1 and 2*) y EBF1/2 (*EIN3- Binding F-Box Protein 1 and 2*), respectivamente (Figura 4) (Guo y Ecker, 2003; Potuschak *et al.*, 2003; Gagné *et al.*, 2004; Qiao *et al.*, 2009).

En la ausencia de etileno, los receptores activos interactúan con el dominio N-terminal de CTR1 para fosforilar el dominio C-terminal de EIN2 (*CEND*), posteriormente EIN2 se degrada por las proteínas F-box ETP1/2 reprimiendo la señalización de la transcripción de genes con respuesta a etileno. En el núcleo, EIN3/EIL1 se degrada a través del proteasoma mediante las proteínas EBF1/2 (Figura 4) (Gagne *et al.*, 2004; An *et al.*, 2010; Yang C *et al.*, 2015).

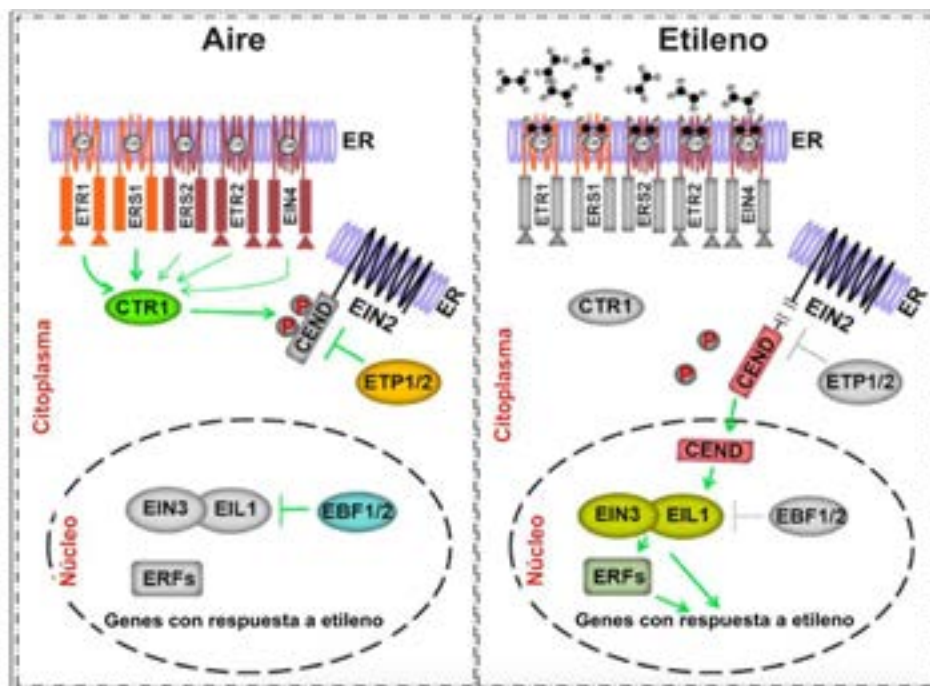


Figura 4. Señalización del etileno en *Arabidopsis*. El etileno se percibe en el retículo endoplasmático (ER), por una familia de receptores *ETR1* (*Ethylene Response 1*), *ETR2*, *ERS1* (*Ethylene Response Sensor 1*), *ERS2* y *EIN4* (*Ethylene Insensitive 4*). En aire, los receptores activos interactúan con CTR1 (*Constitutive Triple Response 1*), fosforila a EIN2 (*Ethylene Insensitive 2*), el cual es degradado por ETP1/2 (*EIN2 Targetin Protein 1 and 2*), que reprimen la respuesta a etileno. En presencia del etileno, se unen a los receptores y CTR1, que luego resulta en la desfosforilación de EIN2 y por lo tanto su escisión del fragmento CEND (C-terminal EIN2) permitiendo su transporte al núcleo, donde su acumulación de EIN3/EIL1 (*Ethylene Insensitive 3/EIN3-Like 1*) induce la transcripción de *ERF1* (*Ethylene-Response-Factor 1*) y a genes con respuesta a etileno (Yang C *et al.*, 2015).

En el tomate hay tres miembros de cada sub-familia *LeETR1*, *LeETR2*, y *NR* (*never ripe*, también llamado *LeETR3*) que se clasifican en subfamilia 1. *LeETR4*, *LeETR5* y *LeETR6* son miembros de la subfamilia 2. Un número de características únicas como la estructura, los patrones de expresión y los mecanismos de regulación, hacen que se diferencien de *Arabidopsis* (Cara y Giovannoni, 2008). Mientras que *Arabidopsis* tiene dos receptores que carecen del dominio receptor (*ERS1* y *ERS2*), en tomate sólo el NR tiene esta estructura. Además, los receptores de etileno en *Arabidopsis* han demostrado una mayor redundancia funcional, mientras que la expresión reducida de *LeETR4* dio lugar a fenotipos de respuesta de etileno constitutivos en frutos y tejidos florales. Curiosamente, la represión del gen *No-Ripening* (*NR*) no dio fenotipo en los frutos, debido a un aumento compensatorio en la expresión de *LeETR4* (Tieman *et al.*, 2000; Cara y Giovannoni, 2008).

En los frutos de la fresa se han identificado y cuantificado la expresión de varios genes relacionados con la percepción y señalización del etileno (Trainotti *et al.*, 2005), así como genes del tipo *Ethylene Response Factor* (*FaERF1*, *FaERF2* y *FaERF3*), cuyos patrones de expresión muestran sus valores más altos en aquenios y en receptáculos verdes (Bombarely *et al.*, 2010). Sin embargo, la expresión de los genes *FaETR1*, *FaETR2* y *FaERS1* es más alta en los receptáculos que en los aquenios. (Merchante *et al.*, 2013a) Estudios recientes a nivel transcricional y metabólico de las líneas transgénicas de fresa con sensibilidad reducida a etileno (mediante la sobreexpresión del mutante de *Arabidopsis etr1-1*) indican, que el etileno es requerido para el desarrollo normal del fruto de fresa, y que actúa de forma diferente en aquenio y en receptáculo (Merchante *et al.*, 2013a). En el aquenio, actúa en las etapas de verde y rojo, mientras que en el receptáculo actúa en las etapas más tardías. En ambos órganos, el etileno afecta selectivamente la expresión de los genes implicados en la recepción del etileno, el metabolismo de fenilpropanoides, la degradación de la pared celular, y la producción del aroma de la fresa. Estos resultados muestran que, aunque de manera no tan relevante como en los frutos climatéricos, el etileno tiene un papel en la maduración del fruto de fresa. (Merchante *et al.*, 2013a).

Giberelinas

Las giberelinas (GAs) están involucradas en varios procesos del desarrollo en plantas, como la germinación de la semilla, la elongación del tallo, la expansión de las hojas, la maduración del polen, la inducción de la floración y el crecimiento del fruto

(Swain y Singh, 2005). Se ha mostrado que en determinados tejidos, la aplicación de giberelina puede inducir un aumento en el contenido de la auxina (Sastry y Muir, 1963), pero, a su vez, la auxina es capaz de estimular la biosíntesis de la giberelina (Koshioka *et al.*, 1994). Estos hechos indican que hay una interacción importante entre estas dos hormonas en diversos procesos fisiológicos (de Jong *et al.*, 2009). En la fresa, se ha mostrado recientemente que las giberelinas están implicadas en la maduración y desarrollo del fruto (Csukasi, 2010; Csukasi *et al.*, 2011; Csukasi *et al.*, 2012; Vallarino *et al.*, 2015). Su implicación en otros procesos sigue siendo tema de estudio.

Síntesis de Giberelinas

La biosíntesis y catabolismo de las giberelinas en las plantas, así como la ruta de señalización, se han descrito anteriormente (Thornton *et al.*, 1999). La biosíntesis de la giberelina en las plantas superiores se puede dividir en tres etapas: (1) la producción de ent-kaureno en proplastidos; (2) conversión de ent-kaureno a GA12 a través de la proteína citocromo P450 monooxigenasas; y (3) la formación de C20 y C19-GAs en el citoplasma (Figura 5 ;Hedden y Phillips, 2000; Cheng C *et al.*, 2015).

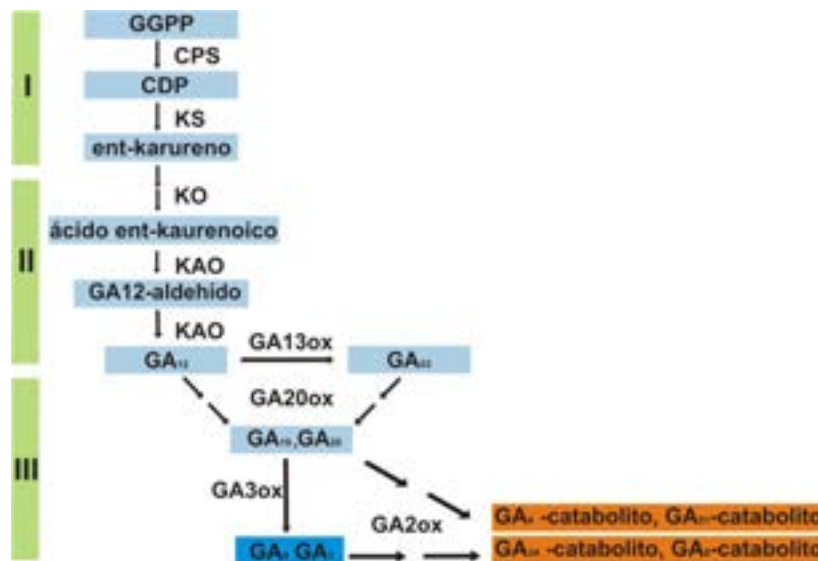


Figura 5. Biosíntesis de giberelina (Cheng *et al.*, 2015). En rectángulo verde: I, primera etapa de la biosíntesis de giberelinas; II, segunda etapa de la biosíntesis de giberelinas; III, tercera etapa de la biosíntesis de giberelina. En rectángulo azul están los intermediarios y en naranja el catabolismo de giberelinas. CDP (ent-copalil difosfato), CPS (ent-copalil difosfato sintasa), GA13ox (GA 13-oxidasa), GA2ox, (GA 2-oxidasa), GA20ox (GA 20-oxidasa), GA3ox (GA 3-oxidasa), KAO (ácido ent-kaurenoico oxidasa), KO (ent-kaureno oxidasa), KS (ent-kaureno sintasa) (Cheng C *et al.*, 2015)

Señalización de Giberelinas

Después de su biosíntesis, la señalización de las giberelinas en *Arabidopsis*, se inicia a través de su unión al receptor *GA INSENSITIVE DWARF1* (GID1). Esto permite la posterior interacción entre GID1 y las proteínas DELLA. En *Arabidopsis* se conocen 5 proteínas DELLA que incluyen: *GA INSENSITIVE* (GAI), *REPRESOR O GAI-3* (RGA), *RGA-like1/2/3* (RGL1, RGL2, y RGL3). Estas proteínas son represores transcripcionales y cuando no están unidas a GID1, reprimen la expresión de los genes con respuesta a giberelina (Fleet *et al.*, 2005). En presencia de la giberelina, los complejos GID1-GA-DELLA son reconocidos por la proteína F-box SLEEPY1 (SLY1) del complejo SCF^{SLY1}, que se encarga de la ubiquitinización de las proteínas DELLA, provocando su degradación mediante el proteasoma 26 (Figura 6; Shan *et al.*, 2012; Cheng C *et al.*, 2015).

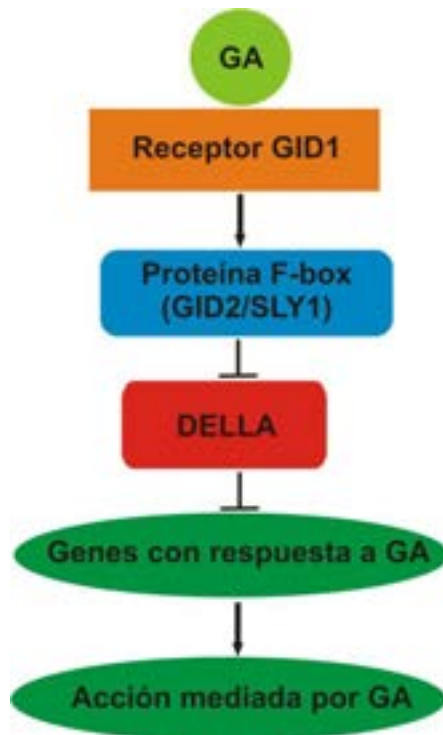


Figura 6. Señalización de las giberelinas en *Arabidopsis*. GA (giberelina), GID1 (*GA Insensitive Dwarf1*), SLY1 (proteína F-box SLEEPY1) (Cheng C *et al.*, 2015)

En relación al desarrollo reproductivo, estudios recientes mostraron que la aplicación de GA3 a inflorescencias de vid, promovieron la apertura de la flor, indujeron la coloración de los frutos y el aborto de semillas. Estos resultados, junto con el estudio transcriptómico paralelo que se hizo, indicaron que las alteraciones

morfológicas inducidas por GA3, pueden estar relacionados con el control de la biosíntesis de la hormona, la señalización, la regulación de factores de transcripción, la alteración de los metabolitos secundarios, y la estabilidad de la homeostasis redox (Cheng *et al.*, 2015).

En la fresa, la acción de las giberelinas en el desarrollo del fruto presenta resultados dispares. Así, la aplicación de ácido giberélico mediante spray a plantas de fresa de la variedad *Pusa Dwarf Early* (Enano Pusa Temprano), en invierno, provocaron que la cosecha se adelantara y que la producción aumentara (Singh *et al.*, 1960). Sin embargo, en otro experimento, la aplicación de giberelina en fresas *F. vesca semperflorens* variedad *Baron Solemacher* durante el otoño, mostraron una disminución en la producción (Guttridge y Thompson, 1964). En otros estudios, la aplicación de giberelina (GA3) no estimuló el crecimiento de frutos a los que se habían eliminado los aquenios (Archbold y Dennis, 1985). Por otro lado, la concentración del ácido indolacético libre (IAA) en los frutos tratados con el ácido naftalenacético (NAA) fue 5 veces mayor que en los controles y 3 veces más que en los frutos tratados con GA4+7 (en 2 % de DMSO más 0.1 % de tween 80), a los 6 días del tratamiento (Archbold y Dennis, 1985). A los 14 días después del tratamiento, los niveles habían disminuido en todo el fruto tratado. La concentración de IAA en el receptáculo de frutos intactos (con aquenios) era casi igual o mayor que la de los aquenios a los 14 días después de la polinización (Archbold y Dennis, 1985). Estudios posteriores mostraron un retraso significativo tanto en la evolución del color como en las actividades de las enzimas clorofilasa y peroxidasa en los frutos cosechados que habían sido tratados con GA3. En otro estudio, la actividad de la enzima fenilalanina amonio-liasa (PAL), necesaria para la producción de antocianinas en la maduración de la fresa (Manning, 1994) y, incrementa su actividad durante la maduración, este incremento se vio retrasado en frutos tratados con GA3 (Martínez *et al.*, 1996). Esta implicación de las giberelinas en el desarrollo del color del fruto de fresa se volvió a observar al sumergir los pedúnculos de frutos blancos en una solución de GA3 durante tres días, produciéndose un pequeño retraso en la acumulación de las antocianinas (Bustamante *et al.*, 2009). Estudios de genes relacionados con la percepción y señalización de giberelinas realizados en nuestro grupo de investigación, han revelado que éstos muestran patrones de expresión muy específicos, que varían con el estadio de maduración, lo que sugiere una participación activa de esta hormona en el desarrollo del fruto (Csukasi, 2010; Csukasi *et al.*, 2011). Estos estudios mostraron que la giberelina bioactiva GA4 está involucrada en los procesos de desarrollo, principalmente en la transición del estadio verde a blanco, y posteriormente al rojo

(Csukasi *et al.*, 2011). Además los resultados muestran que la GA4 se acumula en el receptáculo verde, llegando a un máximo en el estadio blanco, para su posterior disminución en el estadio rojo. Los resultados de Csukasi *et al.* (2011) sugieren que el receptáculo es un órgano donde pueden actuar las giberelinas durante su desarrollo, en coordinación con las auxinas.

Ácido abscísico

En las plantas, la fitohormona ácido abscísico (ABA) está implicada en diversos aspectos como el crecimiento de las plantas, el desarrollo, y las respuestas al estrés ambiental (Leung y Giraudat, 1998; Finkelstein y Rock, 2002; Himmelbach *et al.*, 2003; Hirayama y Shinozaki, 2007). Hay estudios que muestran que la hormona ABA promueve la acumulación de azúcar en los frutos carnosos (Kobashi *et al.*, 1999; Richings *et al.*, 2000; Pan *et al.*, 2005) y juega un papel en la regulación de la maduración de frutos climatéricos y no climatéricos (Giovannoni, 2001; Rodrigo *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2010). En el tomate, la supresión del gen que cataliza el primer paso en la biosíntesis de ABA (*NCED1*, 9-cis-epoxicarotenoide dioxigenasa), tiene como resultado una disminución de la expresión de algunos genes de pared celular relacionados con la maduración, tales como poligalacturonasa y pectinmetilesterasa, así como un aumento en la firmeza y una vida útil más larga del fruto (Sun *et al.*, 2010). Del mismo modo, la reducción de la expresión *NCED*, se correlaciona con el retraso de la maduración de la fresa (Jia *et al.*, 2011). En la fresa *F. × ananassa*, hay diversos estudios donde demuestran que el ácido abscísico (ABA), promueve la maduración del fruto. El uso de la técnica de silenciamiento génico inducido por virus (VIGS) en los frutos de la fresa, aplicado al silenciamiento del gen 9-cis-epoxicarotenoide dioxigenasa (*FaNCED1*) provoca una disminución significativa en los niveles de ABA y la detención de la maduración, con la producción de frutos sin color (Jia *et al.*, 2011). Estos datos proporcionan evidencia de que ABA es una hormona que promueve la maduración de la fresa (Jia *et al.*, 2011).

Brasinoesteroides

Se ha descrito que los brasinoesteroides (BR), tienen un papel importante en el desarrollo y maduración del fruto. Esta hormona se estudió en tomate (climatérico) (Montoya *et al.*, 2005), y en uva (no climatérico) (Symons, 2006). Tanto en el tomate como en la uva, se vio un incremento en la cantidad de BR endógenos en el

desarrollo. Esto coincide con los estudios donde se ve su relación con la maduración del fruto (Symons, 2006). Los estudios en la fresa de Bombarely *et al.*, (2010), mostraron cambios en el receptor de brasinoesteroides *FaBRI1*, cuya expresión fue mayor en el receptáculo, la cual fue aumentando con la maduración. La expresión de *FaBRI1* en el receptáculo rojo sugiere un aumento de la concentración de esta hormona en la última etapa de maduración. La expresión de los genes involucrados en la señalización *FaBZR/FaBIN2* es alta en los achenios blancos y baja en el receptáculo blanco (Bombarely *et al.*, 2010). Esta información es preliminar, y si bien apunta a una participación de los brasinosteroides en la maduración del fruto de fresa, merecería seguir estudiando este tema.

Jasmonato

El ácido jasmónico (JA) y el jasmonato de metilo (MeJA), son importantes reguladores celulares de una amplia gama de procesos, incluyendo la tolerancia al estrés biótico y abiótico, la germinación de semillas y la senescencia foliar. Los JAs también se ha encontrado que desempeñan un papel en la maduración del fruto. En la manzana, una fruta climatérica, la aplicación de MeJA, produce un incremento en: etileno, biosíntesis de ésteres, el color rojo, en el contenido de antocianinas y beta-caroteno, así como la acumulación de varios compuestos fenólicos (Fan *et al.*, 1997; Rudell *et al.*, 2002). Los estudios realizados por Concha *et al.*, (2013) sobre el papel de los jasmonatos (JAS) en la maduración de fresa (*Fragaria chiloensis*) empleando varias concentraciones de jasmonato de metilo (MeJA, 10 y 100 mM) en cultivo *in vitro* sugiere que MeJA promueve la maduración y los procesos relacionados con defensa. Procesos que principalmente parece estar mediado a través de la regulación del etileno. Los cambios observados fueron cambios en la síntesis de lignina, cambios fisiológicos, como el cambio de color, e incremento en el contenido de la proporción entre sólidos solubles/ácidez titulable (SSC/TA) (Concha *et al.*, 2013). A su vez, los efectos a largo plazo observados a los 9 días después del tratamiento con MeJA, parecen estar relacionados con los procesos de senescencia, la regulación de los genes de la biosíntesis del etileno, acumulación de lignina y degradación de hemicelulosa.

Los hallazgos de Concha *et al.*, (2013) sugieren que JAs promueven la maduración de los frutos no climatéricos a través de su participación en la acumulación de antocianinas, la modificación de la pared celular y la biosíntesis del etileno. Sin embargo, se requieren más estudios para aclarar el papel de MeJA en la

maduración del fruto de la fresa, y sobre todo, la interacción de MeJA con el etileno, las antocianinas y vías de biosíntesis de lignina (Concha *et al.*, 2013). Un estudio reciente, realizó la clonación y caracterización funcional de una S-adenosil-L-metionina: ácido jasmónico carboxil metiltransferasa (*JMT*) de *F. vesca* y *F. × ananassa* (Preuß *et al.*, 2014). En donde demostraron mediante ensayos bioquímicos y análisis transcriptómico que el gen *JMT* se ha anotado erróneamente como gen de fusión con una carboxil metiltransferasa (*CMT*, gen 15184) en la primera secuencia del genoma publicado de *F. vesca*. Estos estudios también demostraron que el gen *JMT* parece que juega un papel clave durante las primeras etapas de desarrollo del fruto de la fresa, por la inactivación de la hormona JA de la planta, a través de la conversión a MeJA. Sin embargo, estos estudios sugieren que como los niveles de expresión del gen *CMT* fueron altos en el receptáculo rojo, este gen puede tener su función en las últimas etapas de la maduración del fruto de fresa (Preuß *et al.*, 2014).

Hormonas y regulación transcripcional de la maduración de los frutos de fresa

Existe información relativamente abundante sobre la regulación transcripcional de la maduración de los frutos de fresa. Los estudios se basaron en la identificación de cambios de expresión a lo largo del proceso, en pocos casos apoyados por pruebas funcionales. En la mayoría de los casos se identificaron genes responsables de los cambios que ocurren en los frutos de la maduración, como color, composición, aroma, o firmeza (Aragüez *et al.*, 2013a y 2013b; Sánchez–Sevilla *et al.*, 2014). Sin embargo, en relación con los factores de transcripción, el número de estudios es más limitado. Algunos factores de transcripción que codifican genes han sido asociados a la síntesis de flavonoides, tales como *FaMYB10* (Medina-Puche *et al.*, 2014) y *FaMYB1* (Aharoni *et al.*, 2001), el primero actúa como un activador transcripcional y el segundo como un represor de un subconjunto de genes de la vía. También diferentes componentes del regulador complejo MYB-bHLH-WD40 han sido claramente identificados como de importancia para la biosíntesis de los flavonoides durante el desarrollo del fruto de la fresa (Schaart *et al.*, 2013). Otros factores de transcripción se han asociado a los roles más amplios en todo el desarrollo, como *FaMADS9* (Seymour *et al.*, 2011) y *FASHP* (Daminato *et al.*, 2013). Sin embargo, sólo en muy pocos casos (Merchante *et al.*, 2013a; Daminato *et al.*, 2013; Vallarino *et al.*, 2015), la acción de un factor de transcripción ha sido vinculada a la función de las hormonas. Esta conexión entre la acción hormonal y la regulación de la transcripción en la maduración de los frutos ha

sido bien estudiada en el caso del tomate (Cara y Giovannoni, 2008; Klee *et al.*, 2011; Osorio *et al.*, 2013; Seymour *et al.*, 2013; Pattison *et al.*, 2014). La extensión de este estudio a la fresa es un desafío y ayudará a conocer mejor la regulación global de este proceso de desarrollo.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Objetivos

-Objetivo general:

Profundizar en el estudio de la función de las hormonas auxina y etileno en el proceso de desarrollo y maduración del fruto de fresa (*Fragaria × ananassa*).

-Objetivos particulares:

- Identificar y analizar los patrones de expresión de los genes de la ruta del ácido indol pirúvico de la biosíntesis de auxina a lo largo de la maduración del fruto de fresa.
- Determinar la actividad triptófano amino transferasa de las proteínas involucradas en el primer paso de la biosíntesis de la auxina (FaTAA1) en frutos de fresa.
- Soportar una acción de la auxina en la maduración del fruto de fresa realizando un silenciamiento transitorio por RNAi del gen *FaTAR2*.
- Determinar el efecto de la modificación de la biosíntesis de auxinas en el desarrollo y maduración del fruto de fresa mediante la generación de plantas transgénicas que expresan el gen *TAA1* de *Arabidopsis* bajo el control del promotor 35S.
- Profundizar en el papel que desempeña el etileno en la maduración del receptáculo del fruto de fresa, mediante análisis transcriptómico de plantas transgénicas insensibles a esta hormona, en comparación con plantas no transgénicas.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Capítulo 1:

Estudio de la participación de la auxina en el desarrollo de los frutos de fresa *Fragaria × ananassa*

Materiales y Métodos

Material vegetal

Las plantas de fresa (*Fragaria × ananassa* cv. Camarosa) utilizadas en los estudios de silenciamiento transitorio, son plantas que procedieron de viveros de altura (Valladolid) y crecieron en invernaderos del centro IFAPA de Churriana (Málaga). En los estudios de silenciamiento transitorio, los frutos fueron inyectados 14 días tras la polinización (en un estadio verde tardío, Figura 1 A) y recolectados 10-14 días después de la infiltración en estadio rojo (Figura 1 B). Los frutos fueron congelados inmediatamente con nitrógeno líquido y almacenados a -80 °C.



Figura 1. Estado de los frutos de *F. × ananassa* empleados para la inyección de silenciamiento transitorio por RNAi. (A) Fruto en estadio verde tardío, empleado para la agroinfiltración. **(B)** Fruto tras 14 días tras la infiltración en estadio rojo listo para la recolección.

Construcciones de silenciamiento transitorio por RNAi

Para las construcciones de pBI-*FATAA1i* y pBI-*FaTAR2i* fue necesario seleccionar una secuencia específica para estos genes (el número de acceso de *F. vesca* son el gen 31791 y el gen 31790, respectivamente), estas secuencias fueron amplificadas por PCR mediante una Taq polimerasa de alta fidelidad (*PCR Extender System* de 5PRIME) a partir de cDNA de receptáculo rojo de fresa, empleando los cebadores de la Tabla 1. Los cebadores directo e inverso para la amplificación del fragmento sentido, tienen los sitios de restricción de las enzimas *XbaI* y *NheI*, respectivamente. Por otro lado, los cebadores directo e inverso para el fragmento antisentido tienen los sitios de restricción *SacI* y *SpeI*, respectivamente.

El programa de PCR utilizado fue: 2 minutos a 94 °C, seguidamente de 38 ciclos de 20 segundos a 94 °C, 15 segundos a 60 °C y 15 segundos a 72 °C; finalmente 2 minutos a 72 °C. Los fragmentos amplificados fueron purificados

(mediante el kit *Gen Elute™ Gel Extraction Kit* de SIGMA-ALDRICH, conforme las indicaciones del fabricante), clonados en el vector *pGEMT®-easy* (Promega), y digeridos con las enzimas de restricción *XbaI/NheI* obteniendo fragmentos de aproximadamente 300 pb, posteriormente confirmados por secuenciación. Cada inserto fue clonado separadamente en el vector *pSKAscl35SIntTER* (*pSK*), el cual contiene los sitios de restricción *XbaI/NheI* y *SacI/SpeI* con dirección sentido y antisentido respectivamente, separados por un intrón perteneciente al gen quinona oxidoreductasa de fresa (*FaQR*) Figura 2 A (Hoffmann *et. al.*, 2006). Para obtener la construcción intermedia, el vector *pSK* fue digerido con las enzimas *XbaI* y *NheI* para insertar el fragmento con orientación sentido. Para insertar el fragmento antisentido, el vector *pSK* fue digerido con las enzimas *SacI/ SpeI*. Finalmente los plásmidos intermedios *pSK-FaTAA1i* y el *pSK-FaTAR2i* fueron digeridos con la enzima de restricción *AsclI*, obteniendo un *cassette* que incluía: promotor *CaMV35S*-fragmento sentido-intrón-fragmento antisentido y el terminador *NOS* (Figura 2 A). Los *cassettes* fueron clonados separadamente en el vector binario *pBIAsclI* (Figura 2 B), previa digestión con la misma enzima (*AsclI*), obteniendo como resultado las construcciones de silenciamiento *pBI-FaTAA1i* y *pBI-FaTAR2i* (Figura 2 B). Estos plásmidos fueron utilizados para transformar la cepa *AGL0* de *Agrobacterium tumefaciens* mediante electroporación. Como control negativo y positivo, se utilizó la construcción *pBI-Intrón* y la construcción *pBI-FaCHSi*, respectivamente (Hoffmann *et. al.*, 2006).

Tabla 1. Secuencia de cebadores utilizados para las construcciones de silenciamiento transitorio de *FaTAA1i* y *FaTAR2i*.

Nombre del cebador	Secuencia	Tm (°C)
<i>XbaI</i> <i>FaTAA1i</i> Fw	AATCTAGACGCTCCTTACTACTCGTTTTTCAG	60
<i>NheI</i> <i>FaTAA1i</i> Rv	AAAGCTAGCCAATGTAATCTCCATGTCCCTTC	61
<i>SacI</i> <i>FaTAA1i</i> FW	AAAGAGCTCCGCTCCTTACTACTCGTTTTTCAG	59
<i>SpeI</i> <i>FaTAA1i</i> Rv	AAACTAGTCAATGTAATCTCCATGTCCCTTC	60
<i>XbaI</i> <i>FaTAR2i</i> Fw	AATCTAGACTTGACCAACACCACTGAAA	60
<i>NheI</i> <i>FaTAR2i</i> Rv	AAAGCTAGCGTGTCTTCCTCCTCGGGTCA	59
<i>SacI</i> <i>FaTAR2i</i> FW	AAAGAGCTCCTTGACCAACACCACTGAAA	61
<i>SpeI</i> <i>FaTAR2i</i> Rv	AAACTAGTGTGTCTTCCTCCTCGGGTCA	58

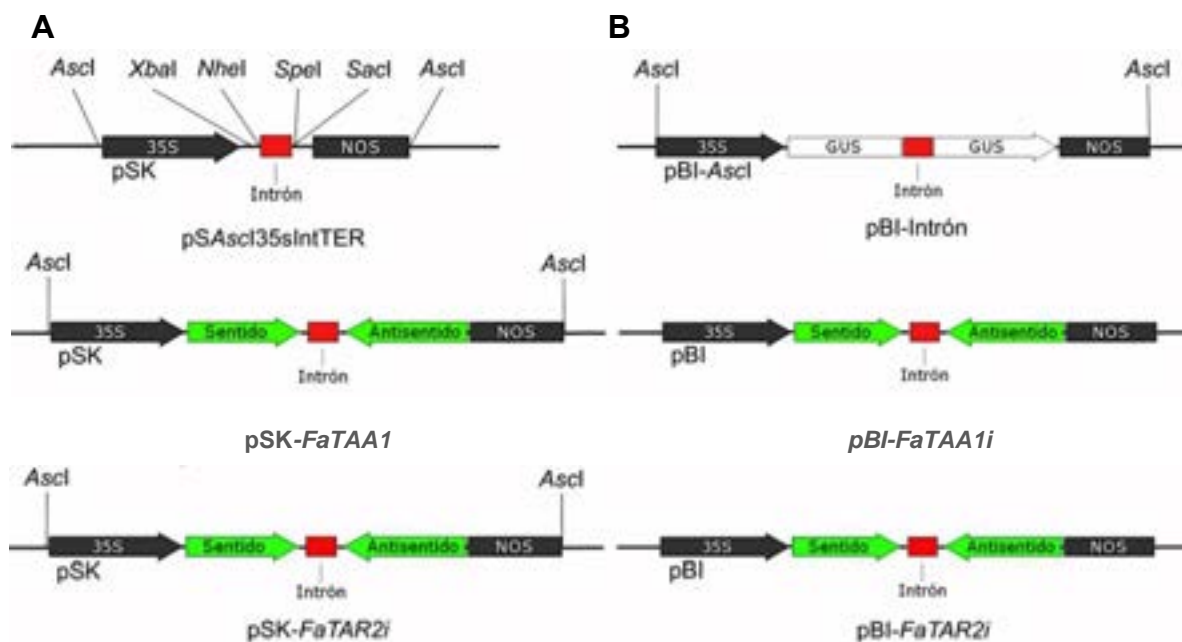


Figura 2. Esquema de las construcciones empleadas para el silenciamiento transitorio RNAi. (A) Esquema del vector pSKAscl35sIntTER (pSK) con los sitios de restricción sentido (*XbaI/NheI*) y antisentido (*SpeI/SacI*), y construcción *psk-FaTAA1i* y *pSK-FaTAR2i* intermedia. (B) Esquema del vector binario pBIAscl, (pBI-Intrón) y construcciones finales de silenciamiento *pBI-FaTAA1i* y *pBI-FaTAR2i*.

Transformación transitoria mediante infiltración con *Agrobacterium* en frutos de fresa.

El silenciamiento transitorio en frutos de fresa, se llevó a cabo como previamente se ha descrito en Hoffmann *et al.* (2006). Brevemente, la cepa AGL0 de *Agrobacterium tumefaciens* fue transformada mediante electroporación con las construcciones pBI-Intrón (como control negativo), pBI-*FaCHSi* (como control positivo), pBI-*FaTAA1i* y pBI- *FaTAR2i*, y se creció a 28 °C en medio Luria Bertani (LB) con 50 µg/mL de kanamicina y 50 µg/mL de rifampicina. Cuando los cultivos alcanzaron una O.D₆₀₀ de aproximadamente 0.8, se centrifugó y el precipitado de células fue resuspendido en medio agar modificado de MacConkey (MMA), que contiene la concentración de sales del medio Murashige y Skoog, 10 mM de ácido 2-etanosulfónico N-morfolino (MES) pH 5.6 y sacarosa 20 g/L (Spolaore *et. al.*, 2001). Aproximadamente 500 µL de esta suspensión fueron inyectados en diversas partes del fruto de fresa 14 días después de la polinización (Figura 3 A). Los frutos permanecieron en planta de 10 a 14 días hasta su recolección (Figura 3 B).

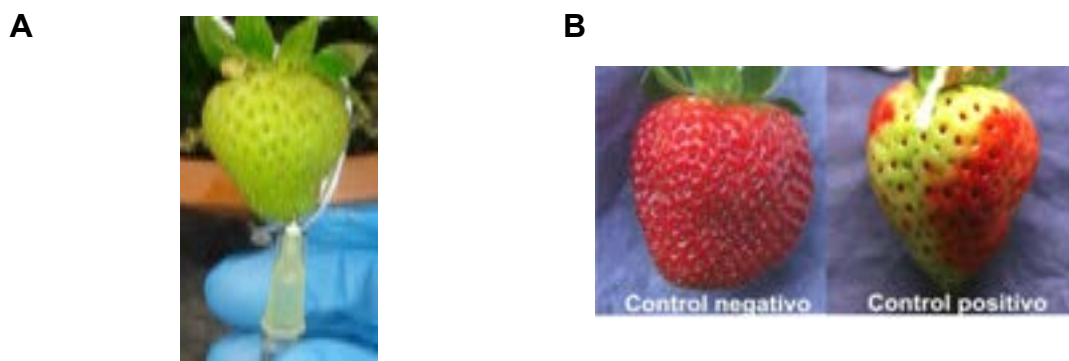


Figura 3. Frutos de *F. ananassa* empleados en el silenciamiento transitorio por RNAi. (A) Fruto con 14 días tras la polinización en estadio verde tardío inyectado la parte apical del fruto. **(B)** Frutos después de 14 días de la agroinfiltración, el control negativo se encontraba en estadio rojo, y el control positivo mostró el fenotipo de silenciamiento del gen *FaCHS*. Los controles indicaron el momento de recolección de los frutos inyectados.

Extracción de RNA

Para la extracción de RNA de receptáculo de fresa se empleó el método descrito previamente (Manning, *et al.* 1991; Osorio *et al.* 2008), el cual se detalla a continuación.

De los frutos Infiltrados, se retiraron los achenios con una punta de bisturí en presencia de nitrógeno líquido y posteriormente se maceró el fruto en un mortero con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino. En presencia de nitrógeno líquido, se pesaron 2.5 g de tejido y se trasladaron a un tubo Beckman de 50 mL estéril, que contenía 10 mL de tampón de extracción (Tris 0.2 M y EDTA 10 mM, preparado en agua-DEPC (0.1 % v/v dietilpirocarbonato (DEPC), ajustado a pH 7.6 con ácido bórico y esterilizado por autoclave), 500 μ L de SDS al 10 % (1/20 del volumen) y 200 μ L de solución acuosa de β -mercaptoetanol (1/50 del volumen). Este último componente se añadió al tampón de extracción antes de utilizarlo. Tras homogenizar con vórtex, se agregó 1 volumen de fenol-cloroformo-isoamílico (25:24:1) y se agitó vigorosamente, hasta que se obtuvo un aspecto lechoso; se prosiguió con una incubación de 5-15 minutos a temperatura ambiente, agitando constantemente, para evitar la separación de las fases con el fin de que el fenol pudiera estar en contacto con las proteínas.

A continuación se centrifugó a 17000 rpm durante 20 minutos a 4 °C y se transfirió el extracto acuoso (se tuvo cuidado de no tomar las otras fases) a un nuevo tubo. Se volvió a agregar 1 volumen de fenol-cloroformo-isoamílico y se repitieron los pasos que arriba se mencionan. A partir de aquí, la extracción se llevó a cabo en hielo.

El sobrenadante recuperado se diluyó 2.5 veces en agua-DEPC estéril con una concentración de 80 mM de acetato sódico (26.7 µL de CH₃COONa 3 M a pH 4.5). Posteriormente, se añadieron 0.4 volúmenes de etilenglicol-butil-éter (2-BE) y se homogeneizó por inversión; se incubó en hielo durante un mínimo de 30 minutos.. Se centrifugó a 17000 rpm, durante 25 minutos a 4 °C.

El sobrenadante se introdujo en un nuevo tubo de 50 mL al que se le añadieron 0.6 volúmenes de 2-BE, se mezcló bien y se incubó en hielo durante un mínimo de 60 minutos. Aquí el 2-BE quedó en una proporción 1:1, lo que permitió que los ácidos nucleicos totales precipitaran. Posteriormente se centrifugó a 17000 rpm, 20 minutos a 4 °C descartando el sobrenadante; las paredes del tubo se lavaron seguidamente con 5 mL etanol 70 %, se centrifugó a 13000 rpm, 10 minutos a 4 °C y se descartó el sobrenadante. El siguiente lavado fue con 5 mL etanol 100 %, se centrifugó a 13000 rpm durante 10 minutos a 4 °C y se eliminó el sobrenadante. El precipitado, que se vió como una fina capa blanca en las paredes del tubo, se dejó secar durante 5-10 minutos a 37 °C, el precipitado se resuspendió en 1 mL de agua-DEPC estéril y se añadió 1/3 del volumen de LiCl 12 M. Se mezcló suavemente y se dejó precipitar toda la noche a 4 °C.

Al día siguiente se centrifugó a 13000 rpm durante 20 minutos a 4 °C y se descartó el sobrenadante. La pared del tubo se lavó con 1 mL de etanol al 70 %. Se centrifugó a 13000 rpm 10 minutos a 4 °C y se eliminó el sobrenadante. Seguidamente se realizó un lavado con 1 mL etanol al 100 %. Se dejó secar el precipitado y se resuspendió en 50 µL de agua-DEPC estéril. El RNA se almacenó a -80 °C.

Por último, el RNA se cuantificó mediante espectrofotometría (*Nanodrop*) y se determinó su calidad tanto midiendo los índices de absorbancia a 260/230 nm y 260/280 nm, como en gel de agarosa al 1 % (para visualizar las bandas se agregó al gel 1 X de *RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution 20,000 X*, las cubetas de electroforesis empleadas fueron *Min-Sub® Cell GT* y *Sub-Cell® GT (BIO-RAD)* con una fuente de alimentación *Power Pack 300 (BIO-RAD)*). Las bandas de RNA se visualizaron con lámparas de luz Uv y el captador de imagen *Gel Doc 2000 (BIO-RAD)*.

Tratamiento de RNA con DNAsa

El tratamiento con DNAsa, se realizó con el kit comercial de *TURBO DNase-free™ Kit de Ambion*.

En un volumen final de 50 μL con un máximo de RNA de 200 $\text{ng}/\mu\text{L}$ (de RNA en agua) se añadió 5 μL del tampón de reacción 10 X *Turbo DNase Buffer* (incluido en el kit) y 1 μL de Turbo DNasa (2U). Se homogenizó la mezcla, se dio un spin y se incubó 30 minutos a 37 °C. Posteriormente, se inactivó con fenol-cloroformo-álcohol isoamílico (25:24:1) y se realizó la precipitación de RNA mediante acetato sódico, 3.2 M pH 5.2 (1/10 v) y etanol 100 % (2.5 volúmenes), durante 2 horas a -20 °C.

Se centrifugó a 13000 rpm durante 40 minutos a 4 °C, se recuperó el sobrenadante, se lavó el precipitado con etanol al 75 %, se dejó secar. Finalmente resuspendió en 20 μL de agua DEPC.

Cuantificación de ácidos nucleicos

Para conocer la pureza y concentración de los ácidos nucleicos se empleó un espectrofotómetro Uv/Visible *ND-1000 (Nanodrop Technologies)*. La calidad del RNA se determinó a partir del cociente de absorbancias a las longitudes de onda de 260/230 nm y 260/280 nm, debiendo estos ser ≥ 2 en muestras libres de polisacáridos y proteínas, respectivamente.

Retrotranscripción del RNA

La síntesis de cDNA se realizó mediante el kit comercial *iScriptTM cDNA Synthesis* de *BIO-RAD* como se indica en la Tabla 2.

Tabla 2. Mezcla de reacción para la síntesis de cDNA.

Componentes	Volumen por reacción
5 X <i>iScript mix</i> de reacción	4 μL
<i>iScript</i> transcriptasa reversa	1 μL
Agua libre de nucleasas	15 μL
Molde RNA	1 μL
Volumen total	20 μL

Las reacciones se llevaron a cabo en el termociclador *MyCycler Thermal cycler (BIO-RAD)* con el programa que se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Programa de PCR para síntesis de cDNA

Tiempo	Temperatura
5 minutos	25 °C
30 minutos	42 °C
5 minutos	85 °C
Mantener a 4 °C (opcional)	

Reacción en cadena de la polimerasa semicuantitativa (RT-PCR)

La PCR semicuantitativa (RT-PCR) se empleó para verificar la integridad y comprobar que la cantidad del cDNA sintetizado fuera similar en todas las muestras. Se añadieron los reactivos que se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Mezcla de reacción de la PCR.

Componentes	Solución stock	Concentraciones finales	Volúmenes
cDNA molde			1 µL
Tampón de PCR	5 X	1 X	5 µL
MgCl ₂	25 mM	2 mM	2 µL
dNTPs	10 mM	0.2 mM	0.5 µL
Cebador directo	10 µM	0.2 µM	0.5 µL
Cebador inverso	10 µM	0.2 µM	0.5 µL
Polimerasa (GoTaq de Promega)	5 U/µL	5 U/µL	0.125 µL
H ₂ O miliQ		Hasta 25 µL	

Los fragmentos amplificados por RT-PCR se visualizaron en geles de agarosa. La semicuantificación se llevó a cabo comparando la intensidad de la banda del gen con la banda correspondiente a *FaGAPDH*.

PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR)

La expresión génica se llevó a cabo mediante la técnica de PCR cuantitativa a tiempo real (qRT-PCR), la cual permite obtener una medida cuantitativa del transcrito de interés (Pfaffl, 2001).

En las reacciones qRT-PCR se utilizó un kit comercial *SsoFastTM EvaGreen®* Supermix (*BIO-RAD*), este emplea un colorante fluorescente de ácidos nucleicos con

propiedades espectrales similares a la fluoresceína, llamado *EvaGreen dye* que se une a todo DNA de doble cadena generado durante la amplificación.

La qRT-PCR se llevó a cabo en un *MyiQ™ Single-Color Real-Time PCR Detection System* de *BIO-RAD* y se elaboraron conforme las instrucciones del fabricante; el volumen final empleado fue de 20 µL, en las Tablas 5 y 6, se muestra la mezcla de reacción y el programa empleado.

Tabla 5. Componente de reacción para qRT-PCR.

Componentes	Volúmen
<i>EvaGreen® Supermix</i>	10 µL
Cebador Directo (F) 10 µM	1 µL
Cebador Inverso(R) 10 µM	1 µL
H ₂ O mili Q	6 µL
cDNA molde	2 µL

Tabla 6. Programa para qRT-PCR.

Ciclos	Temperatura °C	Tiempo en segundos	Número de Ciclos
Activación de la enzima	95	30	1
Desnaturalización	95	5	30-40
Alineamiento/extensión	55-60	10	
Curva de Melting	65-95	10	1

Como gen normalizador se empleó el gen *gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa* de fresa (*FaGAPDH*, número de acceso en el NCBI AB363963.1) (Salvatierra *et al.*, 2010; Merchante *et al.*, 2013a). Fue necesario emplear una curva de eficiencia para cada pareja de cebadores, la cual, empleando diferentes concentraciones del molde a estudiar. Se representó el logaritmo en base 10 (log) de la concentración de DNAg frente a los valores de Ct, resultando una línea recta. La pendiente fue calculada para obtener la eficiencia mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Eficiencia (\%)} = (10^{-1/\text{pendiente}} - 1) \times 100$$

De esta fórmula se deduce, que la eficiencia del 100 % corresponde a una pendiente de -3.32 (Pfaffl, 2001). Los valores de eficiencia fueron cercanos al 100 % por lo que se decidió emplear para las cuantificaciones el método de Livak (Livak & Schmittgen, 2001), también llamado el 2 delta-delta Ct. Este método indica la relación entre los valores de Ct de la muestra problema y el Ct del gen normalizador (*FaGAPDH*) en base a la siguiente fórmula:

$$\text{Diferencia de expresión} = 2^{-\Delta(\Delta Ct)}$$

$$\Delta Ct = Ct (\text{gen de interés}) - Ct (\text{gen constitutivo})$$

$$\Delta(\Delta Ct) = \Delta Ct (\text{muestra problema}) - \Delta Ct (\text{muestra control})$$

Diseño de cebadores

Los cebadores empleados en las distintas reacciones de PCR, se diseñaron a partir del alineamiento de nucleótidos en ClustalW de los genes de la misma familia, seleccionando la zona específica para cada gen. El diseño de cebadores se realizó con la ayuda de Primer 3 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>), con un tamaño de fragmento inferior a 200 pb (Tabla 7).

Tabla 7. Cebadores empleados para los análisis de expresión mediante qRT-PCR.

Nombre Cebador	Secuencia	Tm
<i>FvTAA1 qRt Fw</i>	GGCCAGTGGATGAGCTATGT	64
<i>FvTAA1 qRT Rv</i>	CCACCAGGAGAAGTGAGAGC	64
<i>FvTAR2 qRT Fw</i>	TGAGGAACTTGCTTGTGCTG	64.2
<i>FvTAR2 qRT Rv</i>	TGGACCTCTCTGCTTCTGGT	64.1
<i>FvYUC2 qRT Fw</i>	GCCAAGTACGACACTTGTTTC C	63
<i>FvYUC2 qRT Rv</i>	GAATTCCCACATCCGACAAC	64
<i>FvYUC3 qRT Fw</i>	CGATATCGATGGCTTGTGC	63.9
<i>FvYUC3 qRT Rv</i>	GGTTGCAGAGGTCAAGAGAGAG	64.1
<i>FvYUC4 qRT Fw</i>	CCCAAGATTTTGAGTACATTTTC	59
<i>FvYUC4 qRt Rv</i>	ATTCCCACACCCAATAACCA	62
<i>FvYUC6 qRt Fw</i>	TTGACGATTACGCCACCAAG	63
<i>FvYUC6 qRt Rv</i>	TTTCGGACCCTGCAGTTTCG	62
<i>FvYUC7 qRT Fw</i>	GTGGTACAGTCTTTGCTGTCTG	62
<i>FvYUC7 qRT Rv</i>	CCA TCCTCTCTCCCTTTTCC	63
<i>FvAux/IAA8a qRT F</i>	CCAGGGAGGGAAAGATTGAG	60.2
<i>FvAux/IAA8a qRT R</i>	GGCATCAGAGCCCTTCATTATC	62.1
<i>FvAux/IAA11 qRT F</i>	TGGTGGTCAGGAGCATGATA	61
<i>FvAux/IAA11 qRT R</i>	TTAGCCTCTTCACGGAACCTAAGA	60
<i>FvARF6a qRT F</i>	TTTGATTGCCGACGTGTTTA	63.9
<i>FvARF6a qRT R</i>	CCATCCTCTCTCCCTTTTCC	63.8
<i>FvARF4 qRT F</i>	TTGCCAGTTGAGCATGAGTC	60.2
<i>FvARF4 qRT R</i>	GCTTTCTCCCTCGGTTTTCT	61
<i>AtTAA1 Fw qRT</i>	GAAAGAGAGCGATGCTTTTCC	60
<i>AtTAA1 Rv qRT</i>	CAATTCACCTACCAGATCCGTCT	61
<i>GUS qRT Fw</i>	GATCGCGAAAACCTGTGGAAT	60
<i>GUS qRT RV</i>	AAAGACTTCGCGCTGATACC	59
<i>FaGAPDH Fw</i>	AGCAGGCAGAACCTTTCCGACAG	60
<i>FaGAPDH Rv</i>	TCCATCACTGCCACCCAGAAGACTG	61

Minipreparación de plásmido mediante lisis alcalina

Este método mediante lisis alcalina es el más empleado para la extracción de DNA plasmídico de *E. coli*. Para la minipreparación se inoculó una colonia bacteriana transformada con el plásmido de interés en 7 mL de medio LB con el antibiótico adecuado y se creció en agitación toda la noche (también se ha inoculado directamente desde un stock de células en glicerol 50 % a -80 °C). Tras este periodo se centrifugaron 1.5 mL del cultivo a 6000 rpm y a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se descartó el sobrenadante. Proceso que se realizó dos veces en el mismo tubo. El precipitado de células se resuspendió en 100 µL de solución I (50 mM glucosa, 25 mM Tris-HCl pH 7.5, 10 mM de ácido etilendiaminotetrácetico (EDTA) pH 8, más 3 µL de RNasa (10 µg/mL) para degradar el RNA bacteriano, se mezcló por inversión. Se añadieron 100 µL de solución II (0.2 M NaOH, 1 % SDS, preparada en el momento) y se mezcló por inversión. Por último se añadieron 150 µL de solución III (60 mL acetato potásico 5 M, 11.5 mL de ácido acético y 28.5 mL de agua destilada), y se volvió a mezclar por inversión. Se centrifugó 7 minutos a 13000 rpm a temperatura ambiente, y se recuperó el sobrenadante a un nuevo tubo, donde se añadió 200 µL de isopropanol a temperatura ambiente, para que precipitaran los ácidos nucleicos, y se incubó 5 minutos. Se prosiguió con una centrifugación de 7 minutos a 13000 rpm, se eliminó el sobrenadante y añadió 1 mL de etanol al 70 %. Se centrifugó durante 5 minutos a 7000 rpm y se tiró el sobrenadante con cuidado. Se dejó secar el precipitado hasta que todo el resto de etanol se evaporara. Finalmente, el precipitado se resuspendió en 20 µL de agua destilada.

Obtención de células DH5α competentes mediante cloruro de rubidio

Las células competentes se prepararon según el siguiente procedimiento: Se creció una colonia aislada de la estirpe DH5α de *E. coli* mediante la inoculación de 5 mL de medio LB a 37 °C y en agitación durante 16 horas. Todo el volumen de este cultivo se inoculó en 1 L de medio LB fresco, y se incubó a 37 °C en agitación hasta obtener una OD₆₀₀ de 0.4. Posteriormente se dejó en hielo durante 30-60 minutos, a partir de aquí todo el protocolo se realizó en hielo. El cultivo se transfirió a tubos de centrifuga estériles de 400 mL, y se centrifugó durante 15 minutos a 4 °C y a 4500 rpm. Se descartó el sobrenadante y las células se resuspendieron en 30 % del volumen del cultivo celular inicial con la solución TFB1 (30 mM acetato de potasio, 50

mM cloruro de manganeso ($MnCl_2$), 100 mM de cloruro de rubidio ($RbCl$), 10 mM de cloruro cálcico ($CaCl_2$), con 15 % de glicerol a pH 5.8 esterilizado por filtración). Se incubó 10 minutos en hielo y se centrifugó durante 15 minutos a 4 °C a 4500 rpm. Se eliminó el sobrenadante y las células se resuspendieron cuidadosamente con la solución fría TBF2 (10 mM de ácido 3-N-morfolino propanosulfónico (MOPS), 75 mM de cloruro cálcico, 10 mM de cloruro de rubidio, 15 % de glicerol, el medio se debe esterilizar por filtración) y diluirlo 4 % del volumen original. Para almacenar las células, éstas se alicuotaron en fracciones de 100 μ L y se pasaron inmediatamente a nitrógeno líquido. Después se almacenaron a una temperatura de -80 °C.

Transformación de *E. coli* mediante choque térmico

Para todas las transformaciones de *E. coli* se ha utilizado células competentes de la cepa DH5 α . Para ello en 100 μ L de suspensión de células competentes previamente descongeladas en hielo se le añadieron 15 ng de DNA, o todo el volumen de una reacción de ligación, se incubó 30 minutos en hielo, se les aplicó un choque térmico (60 s a 42 °C) y se incubó 5 minutos en hielo. Se añadieron 500 μ L de medio LB y se incubó 45-60 minutos a 37 °C en agitación. Transcurrido este tiempo, se sembraron en dos placas de Petri con medio LB-agar suplementado con los antibióticos adecuados, por un lado se sembraron 100 μ L de las células transformadas, y por otro lado se sembró el resto del cultivo centrifugado a máxima velocidad durante 1 minuto y resuspendido en 100 μ L de LB. Se dejó crecer a 37 °C toda la noche.

Protocolo de obtención de *Agrobacterium tumefaciens* electrocompetente

Las células electrocompetentes de la cepa AGL0 se prepararon según el siguiente procedimiento. Se crecieron colonias de AGL0 mediante la inoculación en 15 mL de LB a 28 °C, suplementado con rifampicina (50 μ g/mL) en agitación toda la noche (16-20 horas). A partir de este cultivo inicial se tomaron 10 mL y se inocularon en 1 L de LB, sin antibióticos, y se creció a 28 °C en agitación hasta alcanzar una O.D₆₀₀ de 0.8-1 (aproximadamente 12 horas). El cultivo se enfrió en hielo 15-30 minutos para después centrifugarlo en tubos de 400 mL previamente enfriados durante 7 minutos a 4 °C a 6000rpm. Se retiró el sobrenadante y las células se resuspendieron en 1 L de agua bidestilada estéril y fría. Se centrifugó nuevamente durante 7 minutos a 4 °C a 6000 rpm y se retiró cuidadosamente el sobrenadante, para volver a

resuspenderlo en 0.5 L de agua bidestilada estéril y fría. Se prosiguió con otra centrifugación durante 7 minutos a 4 °C a 6000rpm y se eliminó el sobrenadante. Posteriormente se resuspendió en 20 mL de tampón frío de sacarosa-glicerol (272 mM sacarosa, 15 % de glicerol) para después centrifugarlo durante 7 minutos a 4 °C a 6000 rpm y quitar el sobrenadante. Finalmente las bacterias se resuspendieron en 4 mL del tampón frío sacarosa-glicerol y se hicieron alícuotas de 100 µL en tubos 1.5 mL estériles, inmediatamente fueron congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a una temperatura de -80 °C.

Transformación de *Agrobacterium tumefaciens* por electroporación

A un tubo de microcentrífuga que contenía 100 µL de células de *Agrobacterium* electrocompetentes se añadieron unos 70-100 ng de la minipreparación de interés. La mezcla se dejó incubar 10 minutos en hielo. El contenido del tubo se transfirió a una cubeta de electroporación previamente enfriada y se introdujo en el electroporador y se sometió a un choque eléctrico (2.5 KV; 25 µF; 400 Ω). Inmediatamente se añadieron 1 mL de LB sin antibióticos y se dejó incubando 1-2 horas a 28°C en agitación. Transcurrido este tiempo, se sembraron (por un lado 100 µL de las células transformadas y por otro lado el resto del cultivo centrifugado a máxima velocidad durante 1 minuto y resuspendido en 100 µL de LB), en dos placas de Petri con medio LB-agar suplementado con los antibióticos adecuados.

Clonación, expresión y purificación de la proteína recombinante GST-FaTAA1 y GST-FaTAR2

Se diseñaron los primers de *FvTAA1* y *FvTAR2* en *F. vesca* (www.strawberrygenome.org número de acceso: *gene 03586* y el gen *31790* respectivamente) y se amplificó la región codificante en *F. × ananassa* de ambos genes mediante una reacción de PCR empleando una Taq polimerasa de alta fidelidad (*iProof™ High-Fidelity DNA Polymerase BIO-RAD*) a partir de cDNA correspondiente a receptáculo rojo de fruto de fresa, con los cebadores de la Tabla 8. Se obtuvo un fragmento de aproximadamente de 1300 pb cuya secuencia fue confirmada mediante secuenciación. El fragmento amplificado fue purificado, ligado y clonado en el vector *pENTR™/D-TOPO® Cloning Kits* (Life Technologies). Se realizó una recombinación Gateway para clonarlo en el vector *pDEST15* (Invitrogen). Este vector permite la producción de proteínas nativas recombinantes con la fusión de una *etiqueta* de

Glutati6n-S-transferasa (*GST*) en el extremo N-terminal. Posteriormente, este plásmido se transform6 en la cepa *BL21 Star (DE3) pLysS (Invitrogen)* de *Escherichia coli*.

Para la purificaci6n y expresi6n de la prote6na, la bacteria *BL21* transformada con el plásmido *pDEST15-FaTAA1* y *pDEST15-FaTAR2*, se inocul6 en 10 mL de LB suplementado con ampicilina (100 µg/mL) y se creci6 a 37 °C durante toda la noche. Se prosigui6 con una inoculaci6n de este cultivo en 500 mL de LB con ampicilina (100 µg/mL), que creci6 a 37 °C con agitaci6n hasta tener una O.D.₆₀₀ de entre 0.5 a 1. Para inducir la expresi6n de la prote6na se agreg6 0.5 mM de *Isoprop6lico β-D tiogalactopiranosido-1 (IPTG)* y se incub6 durante 4 horas a 37 °C en agitaci6n, se centrifug6 durante 5 minutos a 4000 rpm a 4 °C y el precipitado se lav6 con agua destilada est6ril. El precipitado se resuspendi6 en 10 mL del tamp6n fosfato salino *PBS* (140 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 1.8 mM KH₂PO₄, pH 7.2). Se sonicaron las c6lulas durante 30 segundos, 5-10 veces, hasta que su aspecto fuera homog6neo y l6quido. Se agreg6 5 mL de *PBS* (140 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 1.8 mM KH₂PO₄, pH 7.2) se centrifug6 durante 10 minutos a 10000 rpm a 4 °C. Se a6adi6 triti6n (0.1 %) y se agit6 por 15 minutos en fr6o. Posteriormente se centrifug6 durante 10 minutos a 10000 rpm, 4 °C, recuper6ndose el sobrenadante, al cual se le agreg6 1 mL de perlas de glutati6n-sefarosa (*Amersham Pharmacia*) previamente equilibradas en *PBS* seg6n las instrucciones del fabricante (brevemente, se agit6 la botella de perlas que estaban en 20 % de etanol, se tomar6n 2 mL del compuesto acuoso o la cantidad que se vaya a emplear; se sediment6 por centrifugaci6n a 2200 rpm durante 5 minutos, se decant6 el sobrenadante y se lavaron las perlas de glutati6n sefarosa con 5 mL de *PBS* por cada 1 mL de perlas glutati6n sefarosa. Se mezcl6 por inversi6n y se centrifug6 a 2200 rpm durante 5 minutos, se decant6 el sobrenadante y se repiti6 el lavado y centrifugaci6n una vez mas). Se incub6 a temperatura ambiente durante 30 minutos en un tubo de 15 mL y se prosigui6 con una centrifugaci6n de 5 minutos a 2200 rpm. Se elimin6 el sobrenadante, se agreg6 500 µL de resuspendiendo el precipitado y se traspas6 a tubos de 1.5 mL. Se hicieron lavados agregando 500 µL de *PBS* y centrifugando a 2200 rpm durante 5 minutos. Estos lavados se repitieron cinco veces. Finalmente se eluy6 la prote6na con una soluci6n de 10 µM de glutati6n en *PBS*. Las eluciones se guardar6n a – 80 °C hasta su uso. El tama6o correcto de la prote6na *GST-FaTAA1* es de 68 kDa (44 kDa de *FaTAA1* + 24 kDa de *GST*) y para la prote6na *GST-FaTAR2* el tama6o esperado es de 71 kDa (47 kDa de *FaTAR2* + 24 kDa de *GST*). El tama6o se comprob6 mediante gel de poliacrilamida con dodecilsulfato s6dico (*SDS-PAGE*) y te6idas con azul de *Coomassie*.

Tabla 8. Cebadores empleados para la clonación de la proteína FaTAA1 mediante el sistema Gateway.

Nombre del cebador	Secuencia	Tm (°C)
<i>FaTAA1 GWY Fw</i>	<u>CACCAT</u> GTGCGGCACTGATCATAAC	62
<i>FaTAA1 GWY Rv</i>	GTGCCATTACTGATGGCTTT	61
<i>FaTAR2 GWY Fw</i>	<u>CACCAT</u> GAGGAACTTGCTTGTGCTG	60
<i>FaTAR2 GWY Rv</i>	TGACTGGATTTTGGACAATCGC	61

Electroforesis de proteínas SDS-PAGE

La electroforesis se realizó en geles de poliacrilamida usando el sistema *Mini Protean II® Electroforesis Cell (BIO-RAD)*. Los geles utilizados se prepararon con 10 mL de gel separador al 10 % de acrilamida y 5 mL del gel concentrador. Se montó el equipo y se preparó el gel separador como se indica en la Tabla 9, a continuación se vertió entre los cristales (1 mm) hasta ocupar 2/3 de la altura del cristal, se cubrió con etanol a 100 % y se dejó polimerizar. Posteriormente se quitó el etanol y se preparó el gel concentrador el cual se vertió cubriendo toda la altura del cristal, se colocó el peine y se dejó polimerizar. El gel se colocó en la cubeta de electroforesis y se cubrió con el tampón de electroforesis SDS-PAGE (2.5 mM pH 8.3 de Tris-HCl, 250 mM Glicina, 0.1 % SDS; para los geles no desnaturizantes no se emplea SDS). A las muestras se les agregó 10 µL de tampón de carga (20 mM pH 6.8 de Tris-HCl, 2% v/v de β-mercaptoetanol, 20 % de glicerol, 8% SDS, 0.25 % de azul de bromofenol) a 40 µL de proteína purificada (1 mg/mL) y se cargaron 20 µL en el gel. La electroforesis se llevó a cabo a 80 V hasta que las muestras se encontraron en el gel separador, entonces se aumentó hasta 100 V. Una vez terminada la electroforesis, el gel se tiñó con azul de *Coomassie* o bien se utilizó para ensayo de la actividad enzimática en gel.

Tabla 9. Composición de los geles de acrilamida empleados en la electroforesis de proteína. En geles no desnaturizantes no se agregó SDS.

Mezcla de reacción	Gel separador	Gel concentrador
Agua destilada	2.1 mL	3.5 mL
Tris-HCl 1 M, pH 8.8	3.75 mL	-----
Tris-HCl 1 M, pH 6.8	-----	0.615 mL
SDS 10 %	0.1 mL	50 µL
Acrilamida-Bis acrilamida 30% (BIO-RAD)	4 mL	0.8 mL
APS 10 %	50 µL	5 µL
TEMED	5 µL	30 µL
Volúmen Total	10 mL	5 mL

Tinción con Azul de Coomassie

Después de la electroforesis, los geles se sumergieron 45-60 minutos en solución de tinte (50 % agua destilada, 40 % metanol, 10 % de ácido acético glacial, 0.25 % de *Coomassie blue-R*) con agitación suave. Posteriormente se destañaron toda la noche en agitación suave en solución de destañado (16.5 % etanol, 5 % ácido acético) hasta que desapareció el color de fondo y las bandas fueron visibles.

Ensayo de actividad aminotransferasa en gel

Después de la electroforesis en poliacrilamida no desnaturizante, se realizaron los ensayos de la actividad aminotransferasa como se describe en Pedraza *et al.*, (2004). Brevemente, la mezcla de reacción consistió en 20 mL de tampón Tris-HCl (0.1 M, pH 8.6) que contenía 5.5 mM Trp, 0.2 mM de piridoxal-5-fosfato (PLP), 12.5 mM ácido α -cetoglutárico, 98 μ M metosulfato de fenazina (PMS) y 0.6 mM de nitroazul de tetrazolio (NBT). Los geles se incubaron a 37 °C en la oscuridad hasta la aparición de bandas de color azul-negro (30 min).

Ensayos de actividad de aminotransferasa por HPLC-MS

La cromatografía HPLC-MS, fue realizada en el laboratorio de José M. Alonso en la Universidad de Carolina del Norte *NCSU* (Estados Unidos de América) siendo las reacciones y metodología tal como describe en Koshiba *et al.* (1993) y Stepanova *et al.* (2008). Brevemente, la reacción se llevó a cabo en un volumen de 100 μ L de reacción, la cual contenía 0.1 M de tampón borato pH 8, 0.5 mM de ácido α -cetoglutárico, 0.2 mM de PLP, 4 mM de EDTA pH 8, 10 μ L de la enzima purificada y diferentes concentraciones de L- triptófano (0 μ M, 100 μ M, y 1 mM). Esta reacción se incubó a 37°C durante una hora, posteriormente se le agregó 75 μ L de metanol, se dejó 25 minutos a 55 °C y añadió 225 μ L de metanol frío, se centrifugó durante 5 minutos a 14000 rpm y se recuperaron 100 μ L del sobrenadante. Un volumen de 30 μ L del sobrenadante fue empleado para inyectarlo en el sistema de HPLC

El análisis de HPLC se realizó en un equipo *EV Shimadzu LC-MS module system* 2010 con una matriz de fotodiodos UV (190 nm a 800 nm) de detección. Se empleó como eluyente una mezcla de ácido acético (grado HPLC) (A) y de acetonitrilo (grado GC-MS) como (B) (*VWR*). El programa de elución por gradiente consistió en las proporciones de eluyente A a eluyente B: 10: 90 (0-5 minutos), 15: 85 (5-10 minutos),

17: 83 (10-20 minutos), 25: 75 (20-30 minutos), 35: 65 (30-40 minutos), 45: 55 (40-50 minutos), 52: 48 (50-55 minutos), 55: 45 (55-58 minutos), 60: 40 (58-58.5 minutos), 90: 10 (58.5 a 59 minutos), y 10: 90 (59-60 minutos). Los datos del cromatograma analizados fueron de 0 a 60 minutos. La columna empleada fue *ZORBRX Eclipse XDB-C18* de fase inversa (4.6 x 250 mm, 5 micras) (*Agilent*), con caudal de 0.4 mL/minuto. El volumen de inyección fue de 30 µL de las muestras para el ensayo de HPLC. Para la identificación del producto de la reacción aminotransferasa, se inyectaron 2 µL de los patrones IPA y Trp (0.1 µg/µL) (*Sigma*) recién preparados. El producto de reacción ácido indol-3-pirúvico (IPA) y el sustrato, triptófano (Trp) se muestran en los cromatogramas y se identificaron por el tiempo de retención (52 minutos y de 16-18 minutos, respectivamente) .

Transformación de plantas doble transgénicas *DR5::GUS 35S:: GFP-AtTAA1*

Las líneas de fresa (*F. × ananassa* cv. Camarosa) transformadas con el gen β -glucuronidasa (*GUS*) bajo el control del promotor DR5 se emplearon para sobreexpresar el gen *triptófano aminotransferasa* de *Arabidopsis* (*TAA1*), fusionado con GFP en el extremo amino terminal, con el promotor constitutivo 35S (Stepanova *et al*, 2008). El vector *pGWB2*, con la construcción *35S:: GFP-TAA1* de *Arabidopsis*, fue cedida por el laboratorio del Dr. José M. Alonso (Universidad Estatal de Carolina del Norte, *NCSU, E.U.A.*).

Para la transformación de plantas transgénicas, se empleó el método desarrollado por El Mansouri *et al.*, (1996) y Jiménez (2005). El protocolo de transformación se divide en cuatro fases: precultivo, infección, cocultivo y selección.

Precultivo de disco de hoja: Se partió de un gran número de explantos (300 a 400 discos de hoja de fresa), los cuales se colocaron en una placa de Petri con la superficie adaxial en contacto con el medio de organogénesis que consiste en: medio basal con los macroelementos de la formulación mineral N30K, vitaminas Murashige y Skoog (MS) y benciladenida (BA) (Tabla 10). Los explantos se mantuvieron en oscuridad durante 8 a 10 días para mejorar el proceso de organogénesis. Esta fase permite que los procesos organogénicos se mantengan inducidos.

Tabla 10. Compuestos básicos del medio basal N30K para cultivo *in vitro* de *F. × ananassa*. El asterisco indica las fitohormonas empleadas según las necesidades del medio, si es para organogénesis se empleó benciladenina y para elongación-multiplicación se agregó kinetina. Las soluciones se esterilizaron en autoclave. El NaFe EDTA se preparó a partir de 10 mM de NaFeEDTA y 10 mM de FeSO₄7H₂O.

Compuestos	Concentración	
Sales minerales MS	NH ₄ NO ₃	6 mM
	KNO ₃	13 mM
	MgSO ₄ 7H ₂ O	1 mM
	Ca(NO ₃)24H ₂ O	
	KCl	
	NaFe EDTA	
	KH ₂ PO ₄	
Compuestos orgánicos	Sacarosa	20 g/L
	Vitaminas	10 mL/L
	Mio-insitol	100 mg/L
Micronutrientes MS	MnSO ₄ H ₂ O	100 μM
	ZnSO ₄ 7H ₂ O	30 μM
	CuSO ₄ 5H ₂ O	100 μM
	KI	5 μM
	CoCl ₂ 6H ₂ O	100 μM
	H ₃ BO ₃	100 μM
	Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	1 μM
Vitaminas MS	Tiamina HCl	0.1 g/L
	Piridoxina HCl	0.05 g/L
	Ácido nicotínico	0.05 g/L
	Glicina	0.2 g/L
Agar	7 g/L	
*Fitohormonas	Benciladenina (BA)	2 mg/L
	Kinetina (Kin)	4.7 mg/mL (en NaOH 1M)

Preparación del cultivo para la infección: La bacteria *A. tumefaciens* cepa LBA 4404, se transformó con el vector binario pGWB2. Se preparó un cultivo en LB, pH 7 con los antibióticos adecuados (50 μg/mL kanamicina, 50 μg/mL espreptomycinina y 5 μg/mL de higromicina), y se mantuvo en agitación durante 24 horas a 28 °C. Posteriormente se recultivaron 200 μL del cultivo anterior en 5 mL de LB a pH 7,

suplementado con los mismos antibióticos y se incubó durante 24 horas como se realizó anteriormente.

Infección y cocultivo: En esta fase, se infectaron los explantos precultivados. Se preparó una dilución 1/10 del último cultivo bacteriano con una O.D₆₀₀ de 0.2-0.3 en tubos falcon de 50 mL con agua destilada estéril. La infección se realizó en grupos de 40-50 explantos, que fueron sumergidos durante 15 minutos en agitación suave, intentando que la superficie del explanto quedara expuesta a la bacteria. Con cuidado, los explantos se secaron en papel filtro estéril eliminando el exceso de bacteria para así ser recolocados en las placas de precultivo con ayuda de pinzas estériles.

La fase de cocultivo consistió en cultivar simultáneamente los explantos y el *Agrobacterium* conjuntamente para que éste infecte un mayor número de células vegetales evitando así que ocurra una proliferación excesiva de bacterias causando demasiado daño al explanto. Se guardaron dos días en oscuridad en la cámara de cultivo.

Selección: Después del cocultivo, los explantos fueron colocados en frascos de cristal de 250 mL, con 50 mL de medio de organogénesis (N30K-BA Tabla 10), suplementado con los antibióticos 50 mg/L kanamicina, 5-10 mg/L higromicina (para que se lleve a cabo la selección de las células vegetales que hayan incorporado el T-DNA) y 250 mg/L cefatoxima (para eliminar progresivamente a la bacteria).

A medida que los callos se desarrollaron, se aislaron y transfirieron a un medio de elongación-multiplicación (N30K-Kin, kinetina Tabla 10) con los antibióticos 25-50 mg/L kanamicina y 5-10 mg/L de higromicina. El crecimiento de la bacteria, se mantuvo controlado adicionando 250 mg/L de cefotaxima en el medio y al cabo de 8 ó 12 semanas de cultivo, se redujo la concentración a la mitad y después se eliminó.

Los primeros tallos supuestamente transgénicos, fueron seleccionados de acuerdo a la resistencia que presentaron frente al antibiótico higromicina. Los explantos que enraizaron en este medio y se fueron subcultivando cada 4 semanas hasta que se obtuvieron líneas transgénicas independientes. Una vez obtenidas éstas, se subcultivaron cada 8 semanas para que se multiplicaran las plántulas.

Los callos con aspecto necrosado y con los tallos etiolados, fueron eliminados. La primera herramienta que se usó para la selección de las plántulas doble transgénicas, fue la resistencia que presentaron a higromicina, siendo unas plántulas con hojas color verde intenso y que enraizaban (Jiménez, 2005). Las líneas con doble transformación *DR5::GUS 35S:: GFP-AtTAA1* fueron evaluadas mediante PCR. Se extrajo DNA genómico de las plantas preseleccionadas, y mediante PCR se identificó la presencia del gen *nptII* (resistencia a kanamicina) y del gen *hph* que confiere la resistencia a higromicina.

Extracción de DNA genómico de hojas

El protocolo empleado para extracción de DNA genómico de hojas de fresa, se basa en el protocolo de Woodhead *et al.*, (1998).

En un tubo de 1.5 mL, se agregaron 120 mg de tejido previamente macerado con nitrógeno líquido. Se añadieron 600 µL del tampón de extracción (2% de bromuro de cetil-trimetil amonio CTAB, 1.5 M de NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH 8, 2 % polivinilpolipirrolidona PVPP y 0.5% de beta-mercaptoetanol (se agrega antes de usarse). Se mezclaron por inversión y se incubaron durante 30 minutos a 65 °C en agitación. Se añadió 1 volumen de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) y se agitó por vórtex hasta que se obtuvo una emulsión blanquecina. Se centrifugó a 9000 rpm durante 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante se colocó en un nuevo tubo y se repitió la extracción con cloroformo-alcohol isoamílico. Al sobrenadante se le agregaron 2/3 del volumen de isopropanol, agitándose por inversión hasta que apareció un precipitado (DNA) que se dejó reposar durante 30 min a una temperatura de -20 °C. Posteriormente se centrifugó a 14000 rpm durante 20 minutos a 4 °C y se eliminó el sobrenadante. Se agregaron 200 µL de etanol 70 % y, se centrifugó a 14000 rpm durante 5 minutos. Se eliminó el sobrenadante teniendo cuidado de no llevarse el precipitado, se dejó secar y se resuspendió en 100 µL de agua destilada. Después, se añadió 1 µL de RNAsa (10 mg/mL) y se incubó a 37 °C durante 10 minutos. Para desactivar los enzimas RNAsa, se añadieron 300 µL de agua y 1 volumen de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1) y se agitó mediante vórtex hasta obtener una emulsión. La mezcla se centrifugó a 13000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se recogió el sobrenadante en un nuevo tubo y se añadieron 1/10 del volumen de AcNa 3 M y 2 volúmenes de etanol 100 %, se incubó durante 30 minutos a 1 hora a -20 °C. Se centrifugó a 13000 rpm durante 15 minutos a temperatura ambiente y se lavó el precipitado con 70 % de etanol. Se dejó secar el pellet y se resuspendió en 75 µL de agua bidestilada estéril.

Extracción y medición de auxina en hoja de las plantas *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1* mediante GC-MS

El protocolo de extracción y medición de auxina mediante Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS) se basó en el método de Sade *et al.* (2014). La metodología se describe brevemente a continuación.

Se maceraron hojas en presencia de nitrógeno líquido, se pesaron 1 y 2 gramos del tejido y se le agregó 20 mL de metanol al 80% (v/v) durante toda la noche (12-16 horas) a 4 °C, manteniendo una agitación constante. Se prosiguió con una centrifugación de 6000 rpm durante 13 minutos a 4 °C recuperando el sobrenadante. Posteriormente las muestras fueron reducidas *in vacuo* (en un rotavapor) a una temperatura entre 45-55 °C, posteriormente se diluyó cada muestra en 20 mL de agua. La fase acuosa se ajustó a un pH de 2.8 con 1 M de HCl, posteriormente esta fase fue particionada cuatro veces con volúmenes iguales de acetato de etilo, el proceso se realizó en un embudo decantador recuperando el acetato de etilo (grado cromatográfico, *Merck*). Se combinaron los cuatro volúmenes y fueron evaporados hasta que se secaron por completo. El residuo se disolvió en 1 mL de metanol al 10% y fue colocado en una columna con cartucho C18 (www.phenomenex.com) pre-equilibrada (la columna se lavó con 2 mL de metanol y 2 mL de agua con 2% de ácido acético en vacío). La columna se lavó con ácido acético (pH 3) y posteriormente se agregó la muestra que fue eluída con 80 % de metanol.

La muestra se secó en un *Vaccum Concentrator Plus* de (*ependorf*). Después de evaporar las muestras hasta secarlas se disolvieron en 40 µL de 20 mg/mL de hidrocloruro de metoxiamina en piridina durante 2 horas a 37 °C para proteger de los grupos carbonilo. Los protones ácidos fueron derivatizados con un tratamiento con 70 µL de N-metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida (MSTFA) durante 30 minutos a 37 °C. Se inyectó 1 µL de cada muestra en un sistema GC-TOF-MS (*Pegasus III, Leco*) empleando un sistema de inyector automático (*PAL Agilent*). La cromatografía de gases se llevó a cabo en una columna 30-m MDN- 35. La temperatura de inyección fue de 230 °C, mientras que la línea de transferencia y la fuente de iones se realizó a 250 °C. La temperatura inicial de la estufa fue 85 °C y fue incrementando gradualmente (15 °C/minuto) hasta llegar a una temperatura final de 360 °C. Las muestras se analizaron y cuantificaron empleando auxina como estándar.

Resultados

Identificación de genes de la ruta del Ácido Indol-3-Pirúvico (IPA) de biosíntesis de auxina en *Fragaria vesca*.

Estudios recientes en *Arabidopsis* sugieren que la biosíntesis de auxina se lleva a cabo principalmente por la ruta Indol-3-ácido pirúvico (IPA), que consiste en

dos pasos. En el primero donde TAA1 (THYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE OF ARABIDOPSIS 1) y sus 4 homólogos TAR1-4 (TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE RELATED 1 to 4) convierten el triptófano en IPA (Stepanova *et al.*, 2008). Posteriormente actúan las enzimas pertenecientes a la familia Flavín monooxigenasas (YUCCA), convirtiendo IPA en auxina, habiéndose identificado 11 miembros en la correspondiente familia génica en *Arabidopsis*, (Stepanova *et al.*, 2011; Won *et al.*, 2011).

Para el estudio de estos genes de biosíntesis de auxina que pertenecen a la ruta IPA, se llevó a cabo una búsqueda informática en el genoma de *F. vesca* de los genes *YUCCA*, pues los miembros de la familia *TAA1/TAR* habían sido previamente identificados. Se hizo un alineamiento con las secuencias de aminoácidos de los 11 miembros identificados juntamente con los de *Arabidopsis*. El correspondiente dendrograma se muestra en la Figura 4. En el dendrograma se observó una agrupación de las proteínas en dos grandes grupos. Debido a la importancia de los mutantes en *Arabidopsis yuc1*, *yuc2*, *yuc4* y *yuc6* en embriogénesis, organogénesis floral y desarrollo del tejido vascular (Cheng *et al.*, 2007; Stepanova *et al.*, 2011) se decidió estudiar los genes cercanos a éstos en *Fragaria vesca*, *FvYUC2*, *FvYUC3*, *FvYUC4*, *FvYUC6* y *FvYUC7*. El estudio de los genes *YUCCA* se llevó a cabo analizando su expresión relativa mediante qRT-PCR en *Fragaria × ananassa* cv. Camarosa. Para el diseño de cebadores se utilizaron las secuencias de *F. vesca*, sabiendo que la homología global entre genes de estas dos especies está en torno al 93 % (Bombarely *et al.*, 2010).

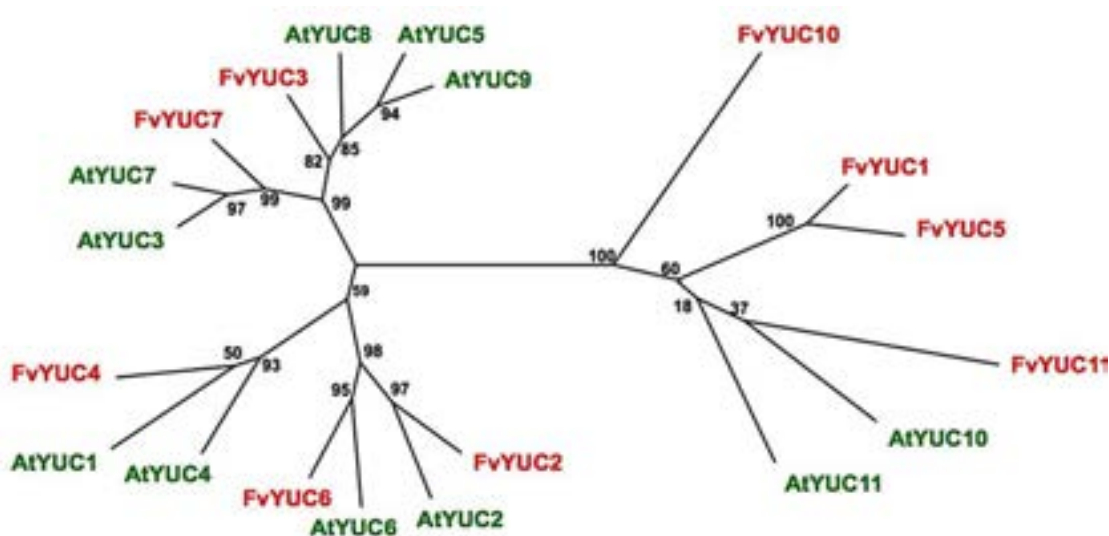


Figura 4. Dendrograma ramificado del alineamiento múltiple de secuencias de aminoácidos de la familia *YUCCA* en *Arabidopsis thaliana* y *F. vesca*. El color verde indica las 11 proteínas pertenecientes a *Arabidopsis* (At) y el rojo, las 9 proteínas pertenecientes a *F. vesca* (Fv).

Expresión de genes de biosíntesis de auxina a lo largo de la maduración de fresa (*Fragaria × ananassa*) mediante qRT-PCR

Los genes de la familia *TAA1/TAR* en *F. × ananassa* fueron estudiados anteriormente en nuestro laboratorio (resultados no mostrados), por lo que se llevó a cabo el estudio de expresión de los genes de la familia *YUCCA* mediante qRT-PCR en aquenios y receptáculos separadamente, en los estados de crecimiento del fruto identificados como verde, blanco y rojo (Figura 5).

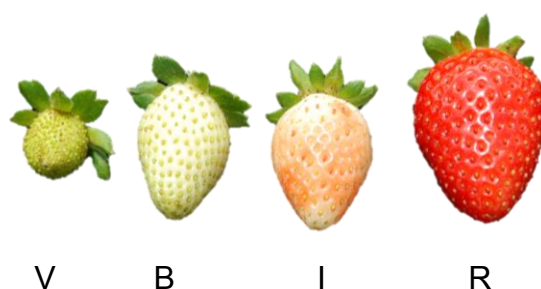


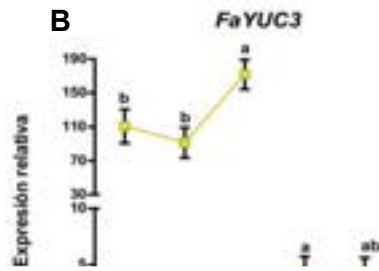
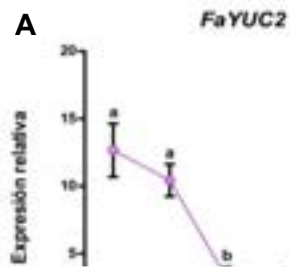
Figura 5. Estadios de maduración del fruto de fresa *F. × ananassa* cv. Camarosa empleado para análisis de expresión. V (estadio verde), B (estadio blanco), I (estadio intermedio), R (estadio rojo).

En aquenios la expresión relativa del gen *FaYUC2* a lo largo de la maduración, presentó un patrón decreciente a lo largo de maduración, teniendo el mínimo valor en aquenio rojo (Figura 6 A). En receptáculo, la expresión del gen *FaYUC2* no mostró diferencias significativas en los tres estados analizados.(Figura 6 A). El gen *FaYUC3* mostró una tendencia ascendente a partir de aquenio verde a rojo teniendo su mayor valor en este estadio. La expresión relativa en receptáculos del gen *FaYUC3* fue similar de verde a blanco y su menor expresión fue en receptáculo rojo, aunque sin diferencia significativa (Figura 6 B).

La expresión relativa en aquenios del gen *FaYUC4* mostró su mayor expresión en estadio verde, el cual fue decreciendo de blanco a rojo, teniendo en este último estadio su expresión menor. La expresión relativa en los receptáculos del gen *FaYUC4* mostró que su mayor expresión en receptáculo verde, disminuyendo a lo largo de la maduración (Figura 6 C). La expresión relativa en los aquenios del gen *FaYUC6* mostró su máxima expresión en estadio blanco, y su mínima expresión en

aquenio rojo; en receptáculos mostró una expresión mayor en estadio verde, el cual fue disminuyendo hasta su menor valor en estadio rojo, aunque la diferencia no fue significativa (Figura 6 D).

En los aquenios del gen *FaYUC7* presentó una mayor expresión en verde, el cual fue disminuyendo a lo largo de la maduración; en receptáculos incrementaron sus valores significativamente a lo largo de la maduración teniendo su mayor expresión en estadio rojo (Figura 6 E).



✂ □ ◆ ♣ ■ ✕ □ ◆

✂

♣

◆ ♣ ■ ✕ □ ◆

♣

♣

✂

♣

◆ ♣ ■ ✕ □ ◆

✂

♣ ♣ ♣ ♣

♣ ♣ ♣ ♣

♣ ♣ ♣ ♣

muestran diferencias significativas, de acuerdo con el método de Fischer ($p < 0.05$). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurion XVI

Expresión de genes de biosíntesis de auxina mediante RNA-seq a lo largo de la maduración de fresa (*Fragaria × ananassa*)

El análisis del RNA-seq de maduración en *Fragaria × ananassa* cv. Camarosa, se llevó a cabo en aquenios y receptáculos separadamente en estadios de maduración en verde, blanco, intermedio y rojo, mostrados en la Figura 5 (Sánchez-Sevilla *et al.*, sin publicar). Los datos se alinearon con el genoma de referencia obtenido de la base de datos del genoma para Rosaceae (RDA) de *Fragaria vesca*, *Whole Genome Asamble* con la anotación v1.1 (<http://www.rosaceae.org>), empleando el software Top Hat y se procesaron los datos mediante Cufflinks para identificar un transcriptoma conocido o alternativo que no estuviera pre-escrito en el modelo del genoma. Las lecturas del mapeo fueron visualizados en el programa *Integrated Genomics Viewer (IGV)*; <http://www.broadinstitute.org/igv/>; Sánchez-Sevilla *et al.*, 2014; Sánchez-Sevilla *et al.*, sin publicar).

Se analizaron los valores de expresión de los 13 genes involucrados en la ruta IPA de biosíntesis de auxina, tanto los de la familia *TAA1/TAR* como los de la familia *YUCCA*. Los valores están expresados como Fragmentos por Kilobase de Exón por Millón de lecturas mapeadas (FPKM). En general los genes *TAA1/TAR* se expresaron con valores entre 9-46 FPKM en aquenios; en receptáculos, la expresión fue mucho menor llegando a valores muy bajos. Sin embargo, el gen *FaTAR2* mostró un valor de 12 FPKM en el último estadio de desarrollo del receptáculo. La expresión gen por gen de esta familia se muestra en la Figura 7.

El gen *FaTAA1* presenta una expresión mayor significativa en aquenio verde, que fue decreciendo a lo largo de la maduración. En receptáculos la expresión fue baja y aumentó con la maduración, aunque las diferencias no fueron significativas (Figura 7 A). El gen *FaTAR1* presentó un patrón en aquenios similar a *FaTAA1*, su mas alto valor fue en aquenio verde y fue disminuyendo conforme la maduración; en los receptáculos, la expresión fue muy bajo, sin diferencias significativas (Figura 7 B). El gen *FaTAR2* mostró un valor mayor de expresión en aquenio verde y fue disminuyendo significativamente hasta su valor más bajo en estadio intermedio. La expresión de receptáculos del gen *FaTAR2* se expresó más que otros genes de esta familia, y además presentó un incremento significativo a lo largo de la maduración,

teniendo la mayor expresión en el estadio rojo (Figura 7 C). El gen *FaTAR3* mostró su máximo valor de expresión en aquenio intermedio de forma significativa, y el mínimo en estadio verde; en los receptáculos no tiene una diferencia significativa entre los estadios (Figura 7 D).

El patrón de expresión en aquenios y receptáculos de los genes de la familia flavin-monooxigenasa (*YUCCA*), que actúan en la segunda parte de la ruta IPA en la biosíntesis de auxinas, en general mostraron valores bajos de expresión (Figura 7 E-M). En aquenios los genes más representativos de esta familia fueron, *FaYUC10* y *FaYUC11* que mostraron patrones de expresión mayores, llegando a sus máximos valores en FPKM de 14 en estadio verde y 111 en estadio intermedio respectivamente (Figura 7 L, M). El gen *FaYUC10* mostró su valor menor expresión en aquenio rojo; en receptáculos, presentó una disminución de su expresión a lo largo de los estadios de verde a rojo (Figura 7 L).

El gen *FaYUC11* mostró en los receptáculos una expresión muy baja, que disminuyó a lo largo de la maduración teniendo el menor valor en el estadio rojo, aunque las diferencias no fueron significativas (Figura 7 M). Los genes *FaYUC1* y *FaYUC5* mostraron una expresión muy baja en los aquenios y en los receptáculos, sin diferencias significativas entre todos los estadios, siendo algo mayor en el aquenio verde (Figura 7 E y I). Los genes *FaYUC2*, *FaYUC3* y *FaYUC7* mostraron todas expresiones muy bajas, con algunas diferencias entre estadios, pero que en ningún caso fue significativa (Figura 7 F, G, K). El gen *FaYUC4* mostró una disminución significativa en su expresión al pasar de el aquenio verde al aquenio rojo, pero en los receptáculos la expresión fue muy baja y sin diferencias significativas (Figura 7 H). El gen *FaYUC6*, también de expresión muy baja, mostró su mayor expresión en el aquenio intermedio, habiendo diferencias significativas en su expresión en los receptáculos (Figura 7 J).

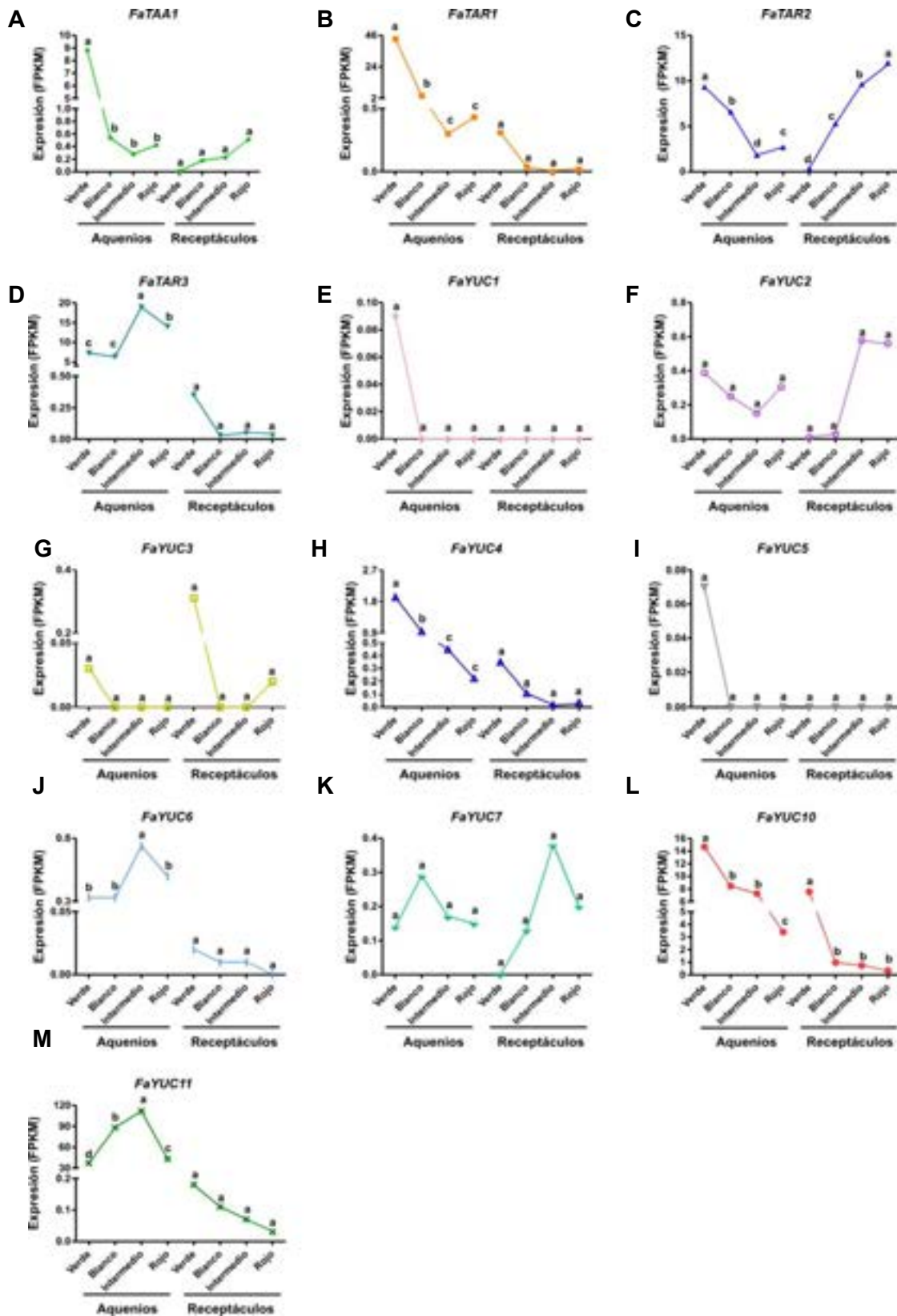


Figura 7. Expresión de transcritos mediante RNA-seq de los genes de la ruta ácido-indol-3-pirúvico (IPA) de biosíntesis de auxina en *F. × ananassa*. La expresión está dada en valores de FPKM en achenios y receptáculos en verde, blanco, intermedio y rojo. (A) Expresión de *FaTAA1*. (B) Expresión de *FaTAR1*. (C) Expresión de *FaTAR2*. (D) Expresión de *FaTAR3*

(E) Expresión de FaYUC1. (F) Expresión de FaYUC2. (G) Expresión de FaYUC3. (H) Expresión de FaYUC4. (I) Expresión de FaYUC5. (J) Expresión de FaYUC6. (K) Expresión de FaYUC7. (L) Expresión de FaYUC10. (M) Expresión de FaYUC11. Los análisis estadísticos empleados fueron mediante FDR (*False Discovery Rate*) en el programa cufflinks, y posteriormente se realizó una corrección para múltiples muestras (Benjamini-Hochberg correction). Las letras minúsculas representan las diferencias significativas en aquenios y receptáculos separadamente.

Medida de actividad Triptófano-Aminotransferasa en gel para la proteína FaTAA1 *in vitro*.

Se ha realizado previamente el estudio de la actividad aminotransferasa de AtTAA1 de *Arabidopsis* con el objetivo de confirmar su participación en la conversión de Trp a IPA en esta especie (Stepanova *et al.*, 2008; He *et al.*, 2011). Para confirmar la actividad de las proteínas FaTAA1 y FaTAR2, identificadas y estudiadas en fresa, se decidió medir la actividad amino transferasa *in vitro* de estas proteínas. Para la expresión *in vitro* de las proteínas nativas FaTAA1 y FaTAR2, se clonó su región codificante a partir de cDNA completo de receptáculo rojo de *F. × ananassa*, en el vector *pDEST15* (Materiales y Métodos), que contiene la etiqueta de Glutación-S-transferasa (GST) en el extremo N-terminal. Además incluye la secuencia Shine-Dalgarno con sitio de unión al ribosoma situado por delante del ATG, lo que asegura la traducción inicial en *Escherichia coli*. Posteriormente, se transformaron células BL21 (DE3) y *pLysS*, se indujo la expresión con isopropil- β -D-1-tiogalactopiranosido (IPTG). La purificación se hizo por afinidad, basada en la alta afinidad de GST por el ligando de glutatión, mientras que las impurezas se eliminaron con lavados. Este etiquetado de las proteínas permitió una elusión en condiciones suaves, no desnaturizantes, preservando su estructura y función de las proteínas marcadas con GST. A pesar de varios intentos de expresar y purificar la proteína FaTAR2 en *E. coli* no logramos obtenerla, por lo tanto solo mostramos resultados de la proteína FaTAA1.

La proteína purificada GST-FaTAA1 fue desnaturizada y separada mediante SDS-PAGE. El tamaño de la proteína GST-FaTAA1 fue de 68 kDa, como se muestra en la Figura 8 A (de los cuales 44 kDa corresponden a FaTAA1 y 24 kDa corresponden a la etiqueta GST). Tras la purificación de la proteína, se prosiguió con la medida de la actividad aminotransferasa en gel, como se detalla en Materiales y Métodos. Esta actividad consiste en donar el grupo amino del triptófano al fosfato de piridoxal (PLP) que actúa como cofactor y lo transporta al ácido α -cetoglutarico, que actúa como receptor.

Para visualizar la actividad se empleó la reducción del colorante nitro azul de tetrazolio (NBT) que tiñó el grupo amino, el color que presentó fue un color azul oscuro Figura 8 B (Pedraza *et al.*, 2004; Stepanova *et al.*, 2008).

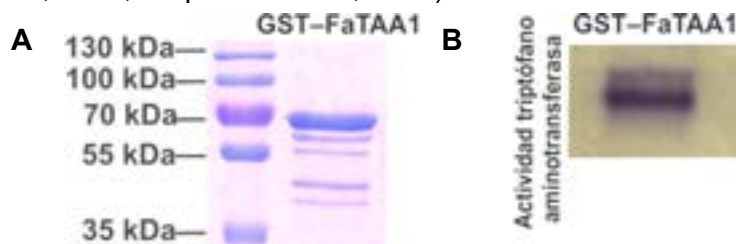


Figura 8. Purificación de la proteína GST-FaTAA1. (A) Electroforesis en gel desnaturizante (SDS-PAGE) de la proteína purificada *in vitro* GST-FaTAA1 (68 kDa) teñido con azul de Coomassie. En la calle uno esta el marcador *PageRuler Plus Prestained Protein Ladder*, en la segunda calle la proteína GST-FaTAA1 desnaturizada. (B) Ensayo de la actividad triptófano aminotransferasa en gel nativo de la enzima GST-FaTAA1.

Para confirmar este resultado de actividad en gel, se decidió analizar la reacción aminotransferasa de la proteína purificada, y la detección de la producción de IPA mediante HPLC.

Medida de actividad Triptófano-Aminotransferasa mediante HPLC para la proteína FaTAA1 *in vitro*.

Se analizó la conversión triptófano a ácido indol-3-pirúvico, identificado mediante HPLC-MS, de la proteína GST-FaTAA1 (Figura 9). Los componentes de la reacción y la medida en HPLC se describen en el apartado de Materiales y Métodos. La medida de la actividad aminotransferasa se realizó con diferentes concentraciones de sustrato (Trp). La primera reacción se realizó sin sustrato (0 μM de L-triptófano Figura 9 A), donde se observaron picos con tiempos de retención entre 2 y 8 minutos, los cuales corresponden a la mezcla de reactivos, y que se observaron en todos los cromatogramas. La segunda reacción se realizó con 100 μM de Trp (Figura 9 B), donde se detecta triptófano con un tiempo de retención de 18 minutos, y otro pico a los 53 minutos. Este pico a 53 minutos corresponde a la forma enol del IPA. Este compuesto puede existir en dos formas tautoméricas. Estas formas son el tautómero ceto y tautómero enol, y ambos pueden identificarse en el cromatograma de HPLC con un tiempo de retención a los 32-33 minutos y 53 minutos, respectivamente. Se sabe que la forma enol es la más estable de las dos y hay evidencia que esta forma predomina como producto en cromatografías líquidas en fase reversa (Tivendale *et al.*, 2014).

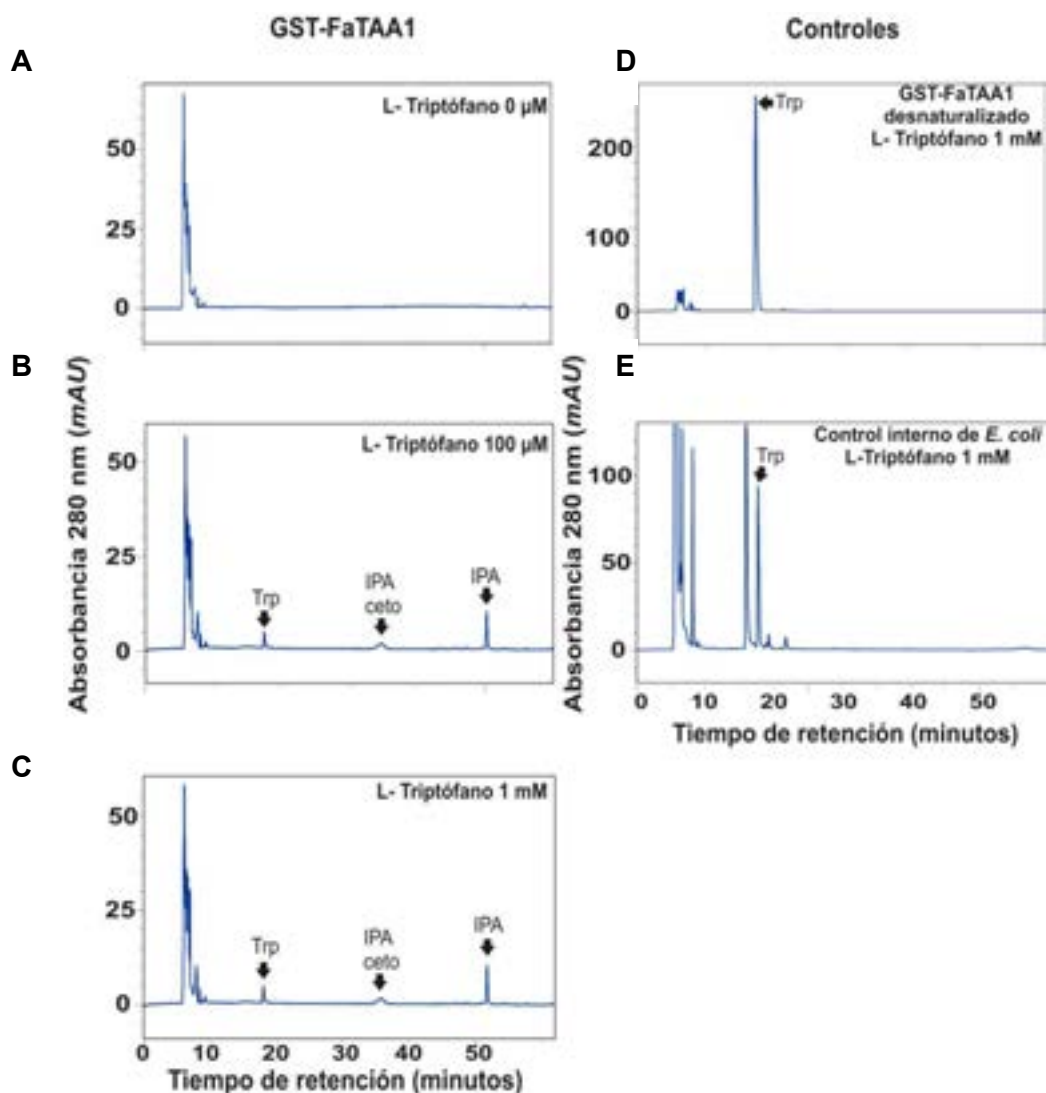


Figura 9. Actividad triptófano aminotransferasa de la proteína purificada *in vitro* GST-FaTAA1 mediante HPLC-MS. (A) Cromatograma de la reacción enzimática aminotransferasa de la enzima GST-FaTAA1 con una concentración de 0 μ M de L-triptófano (Trp). **(B)** Cromatograma con actividad *in vitro* de GST-FaTAA1 con una concentración de 100 μ M de Trp; ácido inol-3-pirúvico (IPA). **(C)** Cromatograma de la actividad enzimática *in vitro* de GST-FaTAA1 con 1 mM de Trp. **(D)** Cromatograma de GST-FaTAA1 desnaturalizada con 1 mM de Trp. **(E)** Cromatograma de la proteína flavin-mooxigenasa de *Arabidopsis*, con una concentración de Trp de 1 mM.

En la tercera reacción se empleó a una concentración de 1 mM de L-triptófano, que de igual forma aparece como producto de reacción la forma enol del IPA, a los 53 minutos (Figura 9 C). Para confirmar que el producto de reacción IPA no era el resultado de una aminotransferasa interna de *E. coli* co-purificada con GST-FaTAA1, sino el resultado de la actividad *in vitro* de la proteína GST-FaTAA1, se produjo y purificó, por el mismo método, una enzima sin actividad aminotransferasa. En este caso se empleó una enzima de *Arabidopsis* con actividad flavin-mooxigenasa, la cual fue otorgada por el Laboratorio de José M. Alonso (Universidad Estatal de Carolina del

Norte, NCSU E.U.A.). En esta reacción enzimática se agregaron los reactivos y una concentración de 1 mM de sustrato (Trp) (Figura 9 E). En el cromograma de esta reacción, se observaron varios picos, entre ellos el que pertenece a Trp a los 18 minutos de retención, sin mostrar el pico perteneciente al producto de la reacción IPA.

Silenciamiento transitorio de genes Triptófano aminotransferasa en *F. × ananassa*

Como se ha mostrado en los apartados anteriores, el receptáculo rojo presentó expresión de algunos de los genes implicados en la biosíntesis de auxina en la ruta IPA. El análisis de los resultados de expresión, realizado por RNA-seq, de los genes triptófano aminotransferasa (*FaTAA1* y *FaTAR2*) mostraron una expresión significativa en los últimos estadios de maduración de este órgano. También se confirmó la actividad *in vitro* de GST-*FaTAA1*. Para probar la función de estos genes *in vivo* se procedió al silenciamiento transitorio mediante ihpRNA (*intron encoding self complementary hairpin RNA*), técnica optimizada en frutos de fresa por Hoffman *et al.*, (2006). Esta técnica permite silenciar los genes de manera específica, empleando moléculas pequeñas de RNA que al tener regiones autocomplementarias forman una horquilla, que es escindida (por enzimas RNAsa) y procesada por enzimas citoplasmáticas (Dicer) produciendo pequeños RNA de doble cadena (siRNA) de 21 - 23 nucleótidos. Estos siRNA se desaparean y la cadena antisentido se fija al RNA mensajero mediante complementariedad de bases. El complejo resultante es reconocido por una RNAsa, la cual conduce finalmente a su degradación, lo que impide la traducción a proteína (Correa de Adjounian *et al.*, 2007).

Este sistema, utilizado en transformación transitoria (Hoffman *et al.*, 2006), permite la degradación del RNA mensajero de interés en el receptáculo de los frutos de fresa, proporcionando una herramienta eficaz para analizar la función de genes involucrados en la maduración de este órgano, en un corto tiempo.

Los genes de la familia triptófano aminotransferasa presentaron una alta homología de secuencia, por esto se realizó un alineamiento de nucleótidos y se seleccionó una sección específica de los genes *FvTAA1* y *FvTAR2* (Figura 10). De esta forma aseguramos el silenciamiento específico de los genes *FvTAA1* y *FvTAR2* y evitaríamos un co-silenciamiento. Nuevamente se utilizaron las secuencias conocidas de *F. vesca* para el diseño de la construcción de silenciamiento en *F. × ananassa*.

Las construcciones de silenciamiento tienen fragmentos de 300pb aproximadamente del gen de interés (*FaTAA1* y *FaTAR2*) en dirección sentido y antisentido, interrumpidos por un intrón (que pertenece al gen quinona oxidoreductasa de fresa, *FaQR*). Estas construcciones de RNAi las denominamos *pBI-FaTAA1i* y *pBI-FaTAR2i* (descritas en Materiales y Métodos), las cuales se utilizaron en las transformaciones transitorias utilizando *Agrobacterium tumefaciens*, tal como se describe en los Materiales y Métodos.

Para las infiltraciones de las construcciones RNAi, se usaron frutos de fresa de la variedad Camarosa, que fue la misma variedad empleada en el análisis de expresión (qRT-PCR y RNA-seq de maduración). Los frutos se infiltraron con la solución de *A. tumefaciens* (como se indica en Materiales y Métodos), que contenían las diferentes construcciones de silenciamiento específicas para cada gen (*pBI-FaTAA1i* y *pBI-FaTAR2i*). De igual forma se inyectaron frutos con el vector vacío (*pBI-intrón*). Como control positivo se inyectó la construcción *pBI-CHSi*, la cual es efectiva en el silenciamiento del gen chalcona sintasa, que está relacionado con la producción de antocianinas (Hoffman *et al.*, 2006). Las inyecciones se realizaron en frutos en el estadio verde tardío (Figura 1 A de Materiales y Métodos) y fueron recolectados de 10-14 días tras la inyección, cuando el control negativo presentaba una maduración uniforme en todo el fruto (Figura 1 B de Materiales y Métodos).

```

FvTAR2 1 -----ATGA-----GGAA-----CTTGCTTG
FvTAR3 1 ATGTT CAGCTCGTCCTCAAGTTCATG CTTTCAAATTGGAATGCAGTTTCTCCCTT
FvTAR1 1 ATGGC AACTTCTTT GCAT TTT CAC ATCAC -----AAA-----TTTGCTTA
FvTAA1 1 -----A-----TG

FvTAR2 17 TGCTGCT -----CTGGCGCTCAATCT-----GAGCTTGATTACTAGGTTT TCTTCG
FvTAR3 61 TTCTGATTCATTATCTGGTTTTTCATTTCTC GGTCTCAT-----CTGAGCTTTCTTTCA
FvTAR1 44 TTCTGCT -----CTCGCCCTCAATCT-----GAGCTTGTGATGAGGTTTATCT CA
FvTAA1 4 TGGGCA-----CTGATCATACCCCT-----TACCCTG-----CAAGCCGT-----A

FvTAR2 65 ACCTGAA A AACATGGGCTCTTCTTCTCTGTGGAG ACCAAGCAGAGAGTCCATCT
FvTAR3 119 ATCTTAA A AACATGGCTTCTGGTTCAGTGTGGAG ACCAGAGAAATAGATGCCATCGA
FvTAR1 92 ATCTGAA A AACATGGCC-----AACCA AAG-----
FvTAA1 41 AC-----AAACAC-----CCTC-----AACCA CCG-----

FvTAR2 125 TTGCTG CAGACANGGAAGCTCAGCGAACCCAGAGACTCTTCAGTCACTTTCTTC---GT
FvTAR3 179 TGGTTGAA ACCATGAAGCTCAAGCAACCATGAGGACCCTTCTGTCCGTTTCCTCAAGT
FvTAR1 119 ---TTGTGACCTTGAAGGTC CCGCAACCAGAGGACACTCTCTCTGTTTCTTCTCT
FvTAA1 63 -----CAATG-----GCA-----CAGAGG-----TCTAGC-----GTTTCAGCT-----

FvTAR2 182 CTGGTCAAGAAGCATGGAA A AAGTCATCAACCTCAACCATGGTGATCCACTATGTAGC
FvTAR3 239 CCGTCAAGAAGACCTGGACAGATCATCAACCTCAACCATGGTGACCCACTATGTAGC
FvTAR1 176 CTGGTCAAGAAGATATGATAAGTTCATCAACCTCAACCATGGTGACCCACTATGTATG
FvTAA1 94 -----GACACCGTCTCAATCTCAACAGGGTGATCCACTATGTATTG

FvTAR2 242 AAAAGTACTGGATGATGATGGGTGAGAAACCACCGTTGTGATACCTGGTGGTACTCCA
FvTAR3 299 AAAAGTACTGGTGTGATGATG GTGAGAAACCACAGTGGTGATTCCAGGGTGGCTCTCA
FvTAR1 236 AAAAGTACTGGATGATGATGGGCGACA AACCACAGTGGTGATTCCAGGGTGGCACTCA
FvTAA1 137 AACCGTACTGGAA A AAGATGGGGGACAACTGCACAATGGTGATCTCCGGTGGCCAGTGA

FvTAR2 302 TGAGCTA T TCTCAGAC TTA A A A A C C T C T G C T G G T T T T G G A G C C C G A T T T G C C A A G C
FvTAR3 359 TGAGCTA C T T C T C A G A T G T A A A A C C C T C T G C T G G T T T T G G A G C C C G A C T T G C C A A G C
FvTAR1 296 TGAGCTA C T T C C G A T G T G A A A A C C C T C T G T G G T T T T G G A G C C C C A C T G C C A T G C
FvTAA1 197 TGAGCTA T G T G A G C G A T T T C A C C A A C T C T G C T C T T T T G G A G C C C A G A T T T G A G A T G

FvTAR2 362 AGTTCA TCAGACTACACA A A G C C G T T G G G A A T G C C G T C A C T G A A G G G C G T C A C A T T G T G G
FvTAR3 419 AGTTATCAGACTCACAA A G C C G T G G G C A A T G C C G T C A C C A A G G G C G T C A C A T T G T G G
FvTAR1 356 AGTTATA A A C T A C A C A A A G C T G T G G G A A T G C C G T C A C T G A A G G G C G T C A A T T G T G A
FvTAA1 257 C G T T A G A G A C T T C A C C G G C G G T T G G G A A T G C C G T G T G G A C G G T C T T A C A T T G T G G

FvTAR2 422 TTGGGACAGGTC TCTCAGCTCATT T T G C T G C G C T T T T C G C T C T T T C T C C A A A G A T G
FvTAR3 479 TTGGACAGGTCGTCTCAGCTCATTATGGCTGC CTTTTCGCTCTTTCTCC A A A G A T G
FvTAR1 416 TTGGGACAGGTCGTCTCAGCTCATTATGCTGCGCTTTTCGCTCTTTCTCC C A G A T G
FvTAA1 317 TTGGGACAGGTC C A C C C A G C T C T A C C A G G C G C G C T G A T G C T C T C A C T T C T C C T G

FvTAR2 482 GATCTGAGCCATGAGTGTCTATCTACAGCCCATTTCTACTCGT-----
FvTAR3 539 GATCAGAGCCCATGAGCGTGGTAGCTACTGCACTTACTACTCGT-----
FvTAR1 476 GATCTGAGCCCATGAGTGTGGTATCTACAGCTCCATTTCTACTCGT-----
FvTAA1 377 GCGCTGAGCCCATGAGTGTCTTCTC CGCTCCTTACTACTCGTTTTTCAGTTGTAGTTG

FvTAR2 527 -----CTTA-----
FvTAR3 584 -----CTTA-----
FvTAR1 521 -----CTTA-----
FvTAA1 437 TTCTTTTCATGTATCGAAAACTTCGGCGACCAAATGAGGGCCTTAAGGGTTCCAGACC

FvTAR2 531 CCGCGT-----GATGAG-CA-ACTACCTCAA TCGGGCCTGTACA A C T G G G C T G G A G
FvTAR3 588 CCGCGT-----GATGAG-CA-CCTACCTCAAGTCGGGGCTGACAACTGGGCTGGAG
FvTAR1 525 CCGCGT-----GATGAG-TA-CATACCTCAAGTCGGGGCTGTTCAACTGGGC G G A G
FvTAA1 497 CCGTGT CATATCCAGATGAGACAGACTATCTCCCTC GGGCTTACAAATGGGCAGGTTG

FvTAR2 581 ATGCCCAAGCTTCAACAA GAAGGCCCG-----TACATCGAGTTTGTACCTCTCCGA
FvTAR3 638 ATCGAA A A G C T T C A A C A A G A A G G C C C C-----TACATTGAGTTC T C A C C T C T C C G A
FvTAR1 575 ATGCCCAAGCTTCAACAA GAAGGACCC-----TACATTGAGTTC T C A C T C T C C G A
FvTAA1 557 ATGCAT T C C T T T A T A A A A G G G A C A T G G A G A T T A C A T T G A G G T G T A A C A C T C C A A

```

FvTAR2 635 ATAACCCCTGATGC--ATTGTGCAG--GCACT-----CTA--TCGGTTAATCGAACTG
FvTAR3 692 ACAACCCCGATG--ATTGCTCAG--GTCCCT-----CCA--CG-----
FvTAR1 629 ATAACCCCGACGG--GTTTTTCAG--GTCCCT-----CCA--CCGTGAATCGAACCG
FvTAA1 617 ACAACCCAGATGGTACTAATCGGAAAGCCGTGGTGAAAAAACCACCAGATGATCAACTTC

FvTAR2 680 GAGGTATTTGGTCCATGATTTGGCTTACTACTGGCCACAGTATACCCTCCATTCCTTCGC
FvTAR3 723 -----
FvTAR1 674 GAGGTATGTTGGTGCATGATTTGGCCTACTACTGGCCACAATATACACCCATTTCTTAC
FvTAA1 677 AAGGGAGCCTTATTCATGACCTTGCCCTACTATTGGCCTCAGTACACTCCCATTACTGCTC

FvTAR2 740 CTGCAGACCATGATCTGTTCATTGTTCCACTGCTCTCAAAGCCACTGGTCATGCCGGGACGC
FvTAR3 723 -----CCACAGGCCATGCTGGGACGC
FvTAR1 734 CGGCAGACCATGATCTGTTCATTGTTCCACTTCAGCAAAGCCAATGGTCATGCTGGGACGC
FvTAA1 737 CTGTCGATGAAAGACATTTATGTACTTCCAGTTTTCGAAAAGCACCGGACATGCTGGTTCC

FvTAR2 800 GCATTGGGTGGGCTCTAGTGAAAGATCCAGAAGTAGCAAAGAAAATGATCAAATTCATAG
FvTAR3 744 GTATTGGGTGAGCTCTAGTGAAAGACA--ACAAGTTGCCAAGAAAATGGTTAACTTCATAG
FvTAR1 794 GCATTGGGTGGGCTCTGGTGAAGGACGAAGAAGTTGCCAAGAGAATGATCAAATTCATAG
FvTAA1 797 GTATTGGATGGGCTATTGTGAAGGACAAAGAAGTTGCTAAGAAGATGCTAAATTCATAG

FvTAR2 860 AGCTCAACACCATTGGCGTGTCCAGGGATTACAGCTCCGAGCTGCCAAGATCTTGGAA
FvTAR3 803 AGCTCAACACCATTGGAGTATCCAGGGATTACAGCTCCGAGCTGCCAAGATTTAG----
FvTAR1 854 AGCTCAACACCATTGGCGTGTCCAGGGATTACAGCTCCGAGCTGCCAAGATCTTGGAA
FvTAA1 857 AGCTCACTTCGCTTGGTGTGTCCAAGACTCTCAGCAACCGAGCTGCAAAGATAATGGGAG

FvTAR2 920 TCTTGACCAACACCCTCAAAAACATGGCAGCTCAGATTCGGGGAATCCTTCTTTGAGA
FvTAR3 -----
FvTAR1 914 TGATGACCAACACCACTGTGT-----TGACAGCTCAGCT-----GAATCCTTCTTTCGACA
FvTAA1 917 TGAT--CTGTGATGGCTATCAGAACTGCAAGGCCAATAACCT--GAGCTATTCCTTTGAGC

FvTAR2 980 AAAGTTACCACCTCATGGCAGAGAGGTGGCGGCTGCTTCGAGCGCGGTGAACAATCGCA
FvTAR3 -----
FvTAR1 962 TAAGCCACCACCTCATGGCAGAGAGGTGGCGGCTGCTCCGAGCGCGGTGAACAATAGCA
FvTAA1 974 ACTGCCAGAACTCATGACTGAAAGGTGGGACAGCTGAGAGAAAGTGGTCCAGCTATTG

FvTAR2 1040 GAATGTTTAGTCTGCCTGACTTTGCACCAGGGTTCTGCCACTTTCTTCAACAGGAGACCC
FvTAR3 -----
FvTAR1 1022 GAAGGTTTAGTCTGCCTGAATTTGCACC--GGGTTCTGCCATTTCTTTTCAAAGGAGACAA
FvTAA1 1034 ACATTTTCAGTCTGCCAAGTATCCAAAGAGTACTGCCTCTTTTCTGAGAAATTCATG

FvTAR2 1100 AGCCTCAACCTGCTTTTCGGTGGCTCAAATGTGAGGACGATCCAG---TGGAGGA---TTG
FvTAR3 -----
FvTAR1 1082 TGCCCTCAACCTGCCCTTCCGATGGCTTAAGTGTGAGGACGATGAAG---TGGAGGA---TTG
FvTAA1 1094 AACCCACATCCAGCATTTCGGTGGTTGAAGTCCAGGAAGACATAGACTTGGAGAGTTTA

FvTAR2 1155 TGAAAGCTTCC--TCAGAGGCCAAGATTTTGACCCGAGGAGGAAGACACTTTGGGGTTA
FvTAR3 -----
FvTAR1 1137 TGAAAGCTTCC--TCAGAGGCCAAGATTTTGACCCGAGGAGGAAGTAAATTTGGGGTTA
FvTAA1 1154 TAAAGGATGCATCAAGTGAAGGAA---GAACTG--GGAGGAAG---TTTGGGACTG

FvTAR2 1214 GCCCAAATATGTCGGCATAAGCATGCTGGATAAGGACATAAACTTTCATTTTGTTCCTGA
FvTAR3 -----
FvTAR1 1196 GCGCAAATATGTTGGAATAAGTATGGTGGATAAGGATATCAACTTCAGTTTGTTCCTGA
FvTAA1 1205 ATCAAATATATCAAGGATCAGCATGCTGACCAAGGATCAGGTTTTTCGACCACCTTCTG

FvTAR2 1274 AGCGATTGTCCAAATCCAG-----TCATGA-----
FvTAR3 -----
FvTAR1 1256 AGCGTTTGTCCAAGCTCCAGGGTTCACAGCAAACTTGGTTTTAGCTGTATTAGCAGTGT
FvTAA1 1265 AGAGATTGTCAAATATAAAG-----CCATCACTAATGGGCACATAA-----

FvTAR2 -----
FvTAR3 -----
FvTAR1 1316 ATCTTCTTGTGGGTGCCTTAACTGCAACTTCTGCAATGATTCTCATGGGATCGAAGGTG

```

FvTAR2 -----
FvTAR3 -----
FvTAR1 1316 ATCTTCTTGTGGGTGCCTTAACTGCAACTTCTGCAATGATTCTCATGGGATCGAAGGTG
FvTAA1 -----

FvTAR2 -----
FvTAR3 -----
FvTAR1 1376 ATGAGAAGAGTTCATGGCATGTTGATAAAGATGGATTGAGGAGAACACTTGGAAGAAAAG
FvTAA1 -----

FvTAR2 -----
FvTAR3 -----
FvTAR1 1436 AAAGCTTTGGATGGCCAAATGTCATTGCCAAGAAAGTAGTGCCAACTCGCAACCTAAGAA
FvTAA1 -----

FvTAR2 -----
FvTAR3 -----
FvTAR1 1496 CAGTAGCGAAAAAATCTGCACCACCTGCACCCATTAGAAATAAGGCAACAACACAGAGAT
FvTAA1 -----

FvTAR2 -----
FvTAR3 -----
FvTAR1 1556 TGCTTCTGTATCTCCAGTCCTTGCCCTGATGCCTATTGA
FvTAA1 -----

```

?

Figura 10. Alineamiento a nivel de nucleótidos de las secuencias pertenecientes a la familia Triptófano aminotransferasa de *Fragaria vesca*. Enmarcado en azul se resalta la zona seleccionada (242 pb) para el silenciamiento transitorio *pBI-FaTAA1*. Enmarcado en verde se resalta la zona seleccionada (de 283 pb) para el silenciamiento transitorio *pBI-FaTAR2i*. Las letras blancas con fondo negro representan nucleótidos conservados en al menos tres de los genes usados en el alineamiento. Número de acceso de los genes en <http://www.strawberrygenome.org>: *FvTAA1* (gene 03586), *FvTAR1* (gene 31791), *FvTAR2* (gene 31790) y *FvTAR3* (gene 14327). El alineamiento se llevó a cabo empleando el programa ClustalW.

Después de 14 días tras la infiltración de *pBI-FaTAA1i* en los frutos, no se observó una diferencia fenotípica comparados con el control *pBI-intrón* (vector vacío). Al analizar la expresión del gen *FaTAA1*, mediante qRT-PCR, de los frutos infiltrados con *pBI-FaTAA1i* no se detectó un silenciamiento en la expresión de este gen en los frutos inyectados comparados con el control. La repetición de un elevado número de transformaciones siempre dio resultados negativos en el silenciamiento de la expresión del gen endógeno *FaTAA1*.

Trascurridos los 10-14 días después de la infiltración, los frutos *pBI-CHSi* mostraron secciones blancas (Figura 11 A), siendo esta pérdida de color explicada por el silenciamiento del gen *chalcona sintasa*, relacionado con la síntesis de antocianinas en el receptáculo en maduración (Hoffmann *et al.*, 2006). Los frutos inyectados con el vector vacío, no mostraron un cambio de color (Figura 11 B). Los frutos infiltrados con la construcción *pBI-FaTAR2i* no mostraron un fenotipo en cuanto a color y tamaño (Figura 11 C). Sin embargo, se midió el nivel de expresión relativa mediante qRT-PCR del gen *FaTAR2* en el receptáculo de los frutos transformados con *pBI-FaTAR2i*. La expresión relativa de los 6 controles negativos (vector vacío), fue muy similar sin un cambio significativo (Figura 11 D). En el caso de los frutos que se transformaron con la construcción *pBI-FaTAR2i*, se observó una disminución en la expresión del gen *FaTAR2* en el receptáculo de los frutos RNAi 4 y RNAi 10 (Figura 11 D). La disminución de la expresión del gen *FaTAR2* de ambos frutos fue entre 65-70 % en comparación con los controles negativos. Los frutos infiltrados con la construcción *pBI-FaTAR2i* no mostraron un fenotipo en cuanto a color y tamaño (Figura 11 C). Sin embargo, se midió el nivel de expresión relativa mediante qRT-PCR del gen *FaTAR2* en el receptáculo de los frutos transformados con *pBI-FaTAR2i*. La expresión relativa de los 6 controles negativos (vector vacío), fue muy similar sin un cambio significativo (Figura 11 D). En el caso de los frutos que se transformaron con la construcción *pBI-FaTAR2i*, se observó una disminución en la expresión del gen *FaTAR2* en el receptáculo de los frutos RNAi 4 y RNAi 10 (Figura 11 D). La disminución de la expresión del gen *FaTAR2* de ambos frutos fue entre 65-70 % en comparación con los controles negativos.

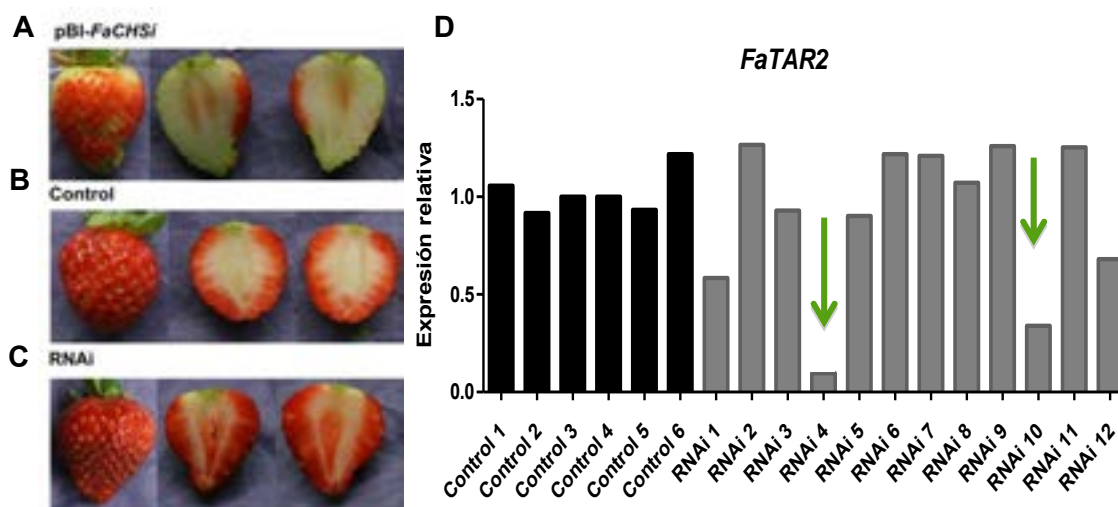


Figura 11. Silenciamiento transitorio por RNAi del gen *FaTAR2* en frutos de fresa *F. × ananassa* cv. Camarosa. (A) Fruto de fresa *F. × ananassa* cv. Camarosa 10 días tras la inyección con la construcción de silenciamiento *pBI-FaCHSi*. (B) Fruto control inyectado con la construcción *pBI-Intrón* (control; vector vacío). (C) Fruto RNAi infiltrado con la construcción *pBI-FaTAR2i*.

FaTAR2i. (D) Análisis de expresión del gen *FaTAR2* en los frutos inyectados RNAi mediante qRT-PCR. Barras negras (frutos control), barras grises (frutos silenciados pBI-*FaTAR2i*). Las flechas verdes indican los frutos RNAi con menor expresión del gen *FaTAR2* (RNAi 4 y 10). Se utilizó al gen *FaGAPDH* como control constitutivo interno

Además de la expresión relativa del gen en los frutos agroinfiltrados con las construcciones de silenciamiento, también analizamos la expresión de algunos de los genes que codifican represores de la señalización por auxinas (Aux/IAA). Se sabe que la degradación de las proteínas Aux/IAA, por la vía de la ubiquitina-proteasoma en concentraciones elevadas de auxina, alivia la represión y conduce a la activación de genes de respuesta a auxinas (Guilfoyle y Hagen, 2007; Chapman y Estelle, 2009; Guilfoyle T, 2015). Se sabe, además, que estos genes responden transcripcionalmente al tratamiento con auxina (Zhao, 2010). Debido a que la familia de los represores de auxinas es amplia, 29 miembros en *Arabidopsis* y 21 en *F. vesca* (Kang *et al.*, 2013), se seleccionaron 2 genes, el *FaAux/IAA8a* y el *FaAux/IAA11*, los cuales presentaron una mayor expresión a lo largo de la maduración, obteniendo su mayor expresión en el receptáculo rojo (Tabla 11).

Tabla 11. Valores FPKM de los genes con respuesta a auxina a lo largo de maduración mediante RNA-seq. En negrita se resaltan los dos genes seleccionados para estudios posteriores

Gen	Numero de acceso en <i>F. vesca</i>	FPKM de RV	FPKM de RR
<i>FaAux/IAA 3</i>	gene32593-v1.0-hybrid	0	0
<i>FaAux/IAA 4a</i>	gene16569-v1.0-hybrid	368.4	3.4
<i>FaAux/IAA 4b</i>	gene08191-v1.0-hybrid	15.3	5.4
<i>FaAux/IAA 8a</i>	gene05555-v1.0-hybrid	193	269.3
<i>FaAux/IAA 8b</i>	gene30941-v1.0-hybrid	0	0.0
<i>FaAux/IAA 8c</i>	gene26830-v1.0-hybrid	32.8	8.4
<i>FaAux/IAA 11</i>	gene08336-v1.0-hybrid	52.1	178.2
<i>FaAux/IAA 12</i>	gene27891-v1.0-hybrid	70.4	2.1
<i>FaAux/IAA 14a</i>	gene32595-v1.0-hybrid	289.9	1.2
<i>FaAux/IAA 14b</i>	gene08194-v1.0-hybrid	52.6	68.5
<i>FaAux/IAA 15</i>	gene05993-v1.0-hybrid	345.5	118.2
<i>FaAux/IAA 16</i>	gene16571-v1.0-hybrid	559.8	38.3
<i>FaAux/IAA 19</i>	gene05990-v1.0-hybrid	5.6	0
<i>FaAux/IAA 26a</i>	gene09007-v1.0-hybrid	68.3	3.5
<i>FaAux/IAA 26b</i>	gene25723-v1.0-hybrid	12.5	7.8
<i>FaAux/IAA 27a</i>	gene11861-v1.0-hybrid	169.2	4.2
<i>FaAux/IAA 27b</i>	gene25817-v1.0-hybrid	295.1	3.4
<i>FaAux/IAA 29</i>	gene31097-v1.0-hybrid	0.5	0.2
<i>FaAux/IAA 31</i>	gene22779-v1.0-hybrid	4.2	3.0
<i>FaAux/IAA 32</i>	gene03875-v1.0-hybrid	31.1	14.3
<i>FaAux/IAA 33</i>	gene16979-v1.0-hybrid	1.6	8.5

La expresión relativa del gen *FaAux/IAA8a* en los frutos RNAi 4 y RNAi 10 mostró una disminución similar para ambos frutos del 50-55 % comparado con el control negativo y con el fruto RNAi 11 que fue inyectado con pBI-FaTAR2i pero que no mostró silenciamiento (Figura 12 A). La expresión relativa del gen *FaAux/IAA11* en el fruto RNAi 4 mostró una disminución del 65 % y el fruto RNAi 10 mostró una disminución del 55 % en su expresión comparados con el control y con el fruto no silenciado RNAi 11. (Figura 12 B).

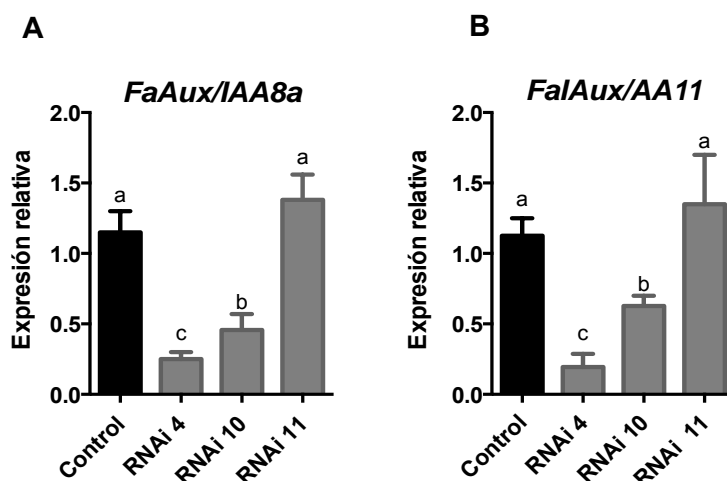


Figura 12. Niveles de expresión de los genes receptores de auxina *FaAux/IAA8a* y *FaAux/IAA11* de frutos silenciados pBI-*FaTAR2i* mediante qRT-PCR. Análisis de expresión del gen *FaAux/8a* (A) y el gen *FaAux/IAA11* (B) en los frutos inyectados RNAi 4 y 10 y 11 mediante qRT-PCR, barras negras frutos control (pBI-Intrón), barras grises están los frutos inyectados con pBI-*FaTAR2i*, (*RNAi4* y *10* están silenciados, y RNAi 11 no está silenciado). Se utilizó al gen *FaGAPDH* como control constitutivo interno. Las diferentes letras indican que hay diferencias significativas de acuerdo con el método LSD de Fischer. Los análisis estadísticos se realizaron en Graph pad primis 6. Se realizaron dos réplicas técnicas para cada muestra.

Se ha descrito que cuando los niveles de auxina son bajos en la célula, las interacciones de los factores con respuesta a auxina (*ARF*) con los represores (*Aux/IAA*, a través de sus dominios PB1 en elementos de respuesta a auxina) facilitan la represión de genes de respuesta a auxinas (Guilfoyle T, 2015), por lo que decidimos observar la expresión de dos *ARFs* en los frutos transformados con pBI-*FaTAR2i*.

Primero se seleccionó al gen *FaARF6a* ya que mostró la mayor expresión en el receptáculo rojo en el análisis del RNA-seq a lo largo de maduración (Tabla 12) y el segundo gen que se seleccionó por mostrar una expresión menor (pero detectable en qRT-PCR, Tabla 12) en el receptáculo rojo fue el gen *FaARF4* (Tabla 12).

Se decidió ver la expresión de estos genes en el fruto RNAi 4, ya que mostró una disminución en su expresión, cerca del 60 % en los genes *FaAux/IAA*.

Tabla 12. Genes factores con respuesta auxina mediante RNA-seq. Los valores están dados e FPKMA y en receptáculo verde (RV) y rojo (RR). Los genes con negrita fueron elegidos para análisis posteriores. nd: no detectado

Gen	Numero de Acceso	FPKM RV	FPKM RR
<i>FaARF 1a</i>	gene29255-v1.0-hybrid	47.9	26.7
<i>FaARF 1b</i>	gene27792-v1.0-hybrid	1.0	0.1
<i>FaARF 2</i>	gene06434-v1.0-hybrid	94.4	32.9
<i>FaARF 3</i>	gene29771-v1.0-hybrid	127.3	51.5
<i>FaARF 4</i>	gene28545-v1.0-hybrid	45.9	10.2
<i>FaARF 5</i>	gene08492-v1.0-hybrid	10.4	4.7
<i>FaARF 6a</i>	gene30394-v1.0-hybrid	93.3	275.3
<i>FaARF 6b</i>	gene22728-v1.0-hybrid	28.5	29.5
<i>FaARF 8</i>	gene31631-v1.0-hybrid	26.8	39.1
<i>FaARF 9</i>	gene19138-v1.0-hybrid	31.8	1.6
<i>FaARF 11</i>	gene25123-v1.0-hybrid	10.1	6.3
<i>FaARF 15</i>	gene14094-v1.0-hybrid	nd	nd
<i>FaARF 16a</i>	gene09733-v1.0-hybrid	30.8	31.0
<i>FaARF 16b</i>	gene16844-v1.0-hybrid	6.2	4.0
<i>FaARF 16c</i>	gene23280-v1.0-hybrid	2.2	2.9
<i>FaARF 17a</i>	gene23072-v1.0-hybrid	nd	nd
<i>FaARF 17b</i>	gene02234-v1.0-hybrid	108.1	21.9
<i>FaARF 17c</i>	gene16050-v1.0-hybrid	nd	nd
<i>FaARF18</i>	gene 09733-v1.0 hybrid	30.8	31.0
<i>FaARF 19a</i>	gene12917-v1.0-hybrid	71.9	26.9
<i>FaARF 19b</i>	gene12224-v1.0-hybrid	23.1	18.8

El gen *FaARF4*, en el fruto RNAi 4 mostró un aumento en la expresión del gen comparado con el control (Figura 13 A). La expresión relativa del gel *FaARF6a*, disminuyó un 60 % en el fruto RNAi 4 comparado con el control (Figura 13 B).

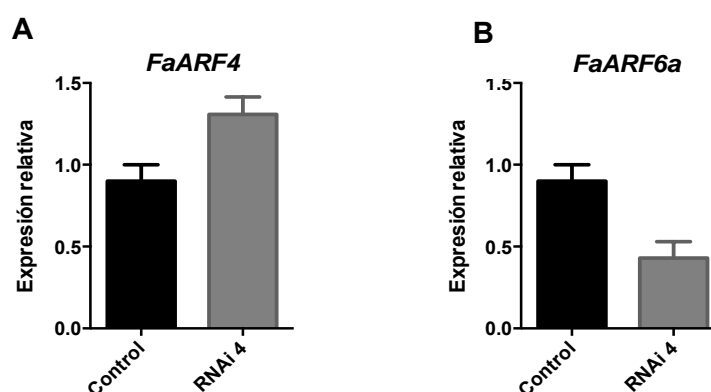


Figura 13. Niveles de expresión de los genes factores de transcripción con respuesta auxina *FaARF6a* y *FaARF4* de frutos silenciados pBI-*FaTAR2i* mediante qRT-PCR. Análisis de expresión del gen *FaARF4* (A) y el gen *FaARF6a* (B) en el fruto RNAi 4 mediante qRT-PCR, barras negras frutos control (pBI-Intrón), barras grises (frutos silenciados pBI-

FaTAR2i). Se utilizó al gen *FaGAPDH* como control constitutivo interno. Se muestran dos réplicas técnicas.

Generación e identificación de plantas doble transgénicas *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1* en *Fragaria × ananassa*

En el laboratorio se disponía de plantas transgénicas de *F. × ananassa* que expresaban el gen β -glucuronidasa (*GUS*) bajo el control del promotor *DR5*, el cual contiene un elemento sintético que induce en la respuesta transcripcional a auxina (Ulmasov *et al.*, 1995; Ottenschläger *et al.*, 2003) Estas plantas transgénicas se emplearon para ser transformadas con el gen *TAA1* de *Arabidopsis*, unido a la región codificante de la proteína de fluorescencia verde (GFP) en el extremo amino terminal, bajo el control del promotor *35S*. Estudios de sobreexpresión de *TAA1* bajo promotor *35S* en *Arabidopsis* han sido útiles para estudiar la acción de la auxina en el desarrollo de la planta (Robert *et al.*, 2013) La construcción *35S::GFP-TAA1* se realizó en el vector *pGWB2*, que fue otorgado por el Dr. José M. Alonso y transformada en *Agrobacterium*. El marcador de selección utilizado en esta segunda transformación fue el de resistencia a higromicina.

Se generaron líneas doble transgénicas independientes y se realizó una primera selección en el cultivo *in vitro*, mediante PCR en DNA extraído de hojas. Se comprobó que las plantas tenían tanto la primera construcción *DR5::GUS* con el marcador de resistencia a kanamicina (*nptII*) como la segunda construcción *35S::GFP-AtTAA1* y el marcador de resistencia a higromicina (*hph*). En total se identificaron 50 líneas con la doble transformación, más el control de regeneración, el cual tiene una única transformación con *DR5::GUS* (resultados no mostrados).

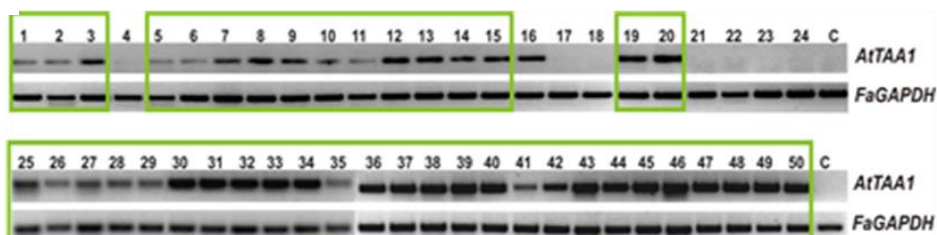
Se realizó una comprobación posterior mediante RT-PCR semicuantitativa de la expresión del gen *AtTAA1* empleando como control, la expresión del gen *FaGAPDH*, que tiene una expresión constitutiva en tejido de hojas, (Figura 14 A). Se seleccionaron las líneas que presentaban un banda con intensidad media y alta 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 20 y de la 25 a la 50 (Figura 14 A) para realizar análisis de expresión mediante qRT-PCR.

El análisis del gen *AtTAA1* mediante qRT-PCR se realizó en dos partes, la primera etapa se evaluaron las 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 20, y se seleccionaron las líneas 9, 12 y 13 para análisis posteriores por su mayor expresión del gen ectópico *AtTAA1* (Figura 14 B izquierda). La segunda parte de la medición del gen *AtTAA1* por qRT-PCR se realizó al final de la temporada y se evaluaron las líneas

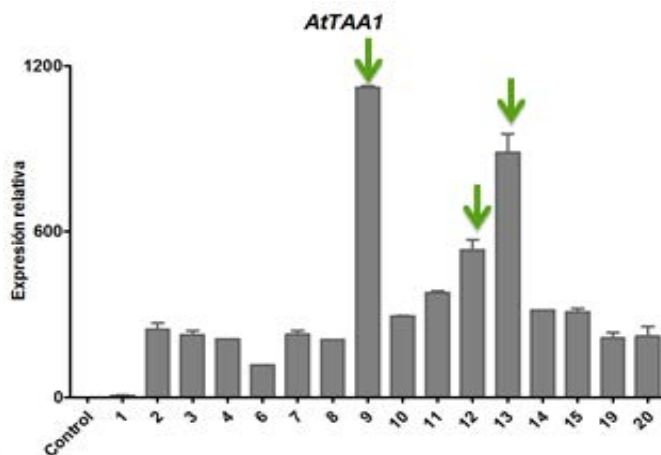
25 a 50. En esta segunda parte se seleccionó la línea 34 por su mayor expresión relativa (Figura 10 B derecha) para un análisis posterior en el siguiente año.

Se decidió medir la concentración del ácido indolacético (IAA) mediante Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masa (GC-MS) en tejido de hojas de aquellas líneas con mayor expresión de *AtTAA1*. Se realizó en 3 réplicas biológicas de las plantas (9, 12 y 13) y del control de regeneración. Los resultados se muestran en la Tabla 13 . Los resultados de la medición no se encontraron diferencias significativas en la concentración de auxina en las hojas de las líneas doble transgénicas comparadas con el control.

A



B



C

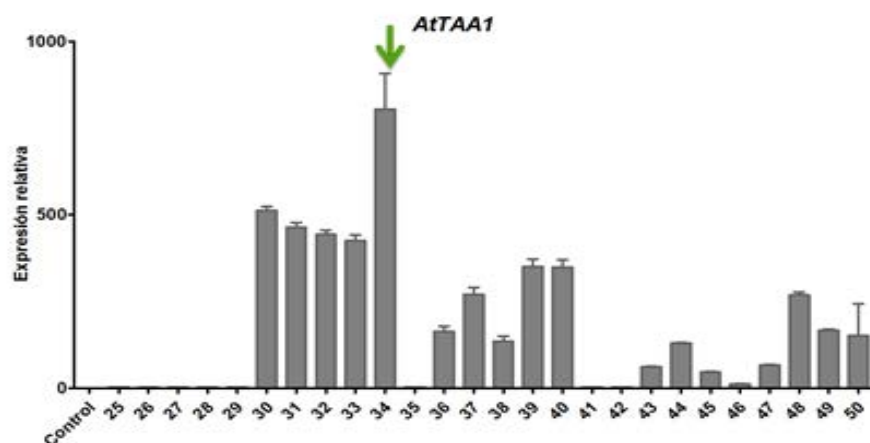


Figura 14. Expresión del gen triptófano amino transferasa de *Arabidopsis* (*AtTAA1*) en mediante RT-PCR semicuantitativa del gen ectópico *AtTAA1* en las hojas de las líneas doble

transgénicas de la 1 al 50 y el control (C). Se empleó como control constitutivo interno el gen *FaGAPDH*. En rectángulo verde están las líneas seleccionadas para hacer análisis de expresión relativa. **(B)** Expresión relativa del gen *AtTAA1* en hojas mediante qRT-PCR de las líneas del 1,2,3,5 al 15, 19, 20 y el control. **(C)** Expresión relativa del gen *AtTAA1* en hojas por qRt-PCR de las líneas 25 a 50 y el control . Las flechas verdes indican las líneas seleccionadas para análisis posteriores.

Tabla 13. Medida de auxina en tejido de hoja de las plantas *DR5::GUS 35S:: GFP-AtTAA1* mediante GC-MS. Para cada muestra se realizaron 3 réplicas biológicas, se muestra el promedio dado en ng/gFW (peso fresco) y la desviación estandar.

Muestras	ng/gFW	Desviación estandar
Control de regeneración	6.89	0,67
Línea 9	6.33	0,86
Línea 12	7.26	1,02
Línea 13	7.01	0,76

Generación y caracterización de las plantas doble transgénicas

DR5::GUS 35S:: GFP-AtTAA1

A las plantas *DR5::GUS 35S:: GFP-AtTAA1* se les realizó un seguimiento, en su primer año . Primeramente se decidió analizar la expresión del gen *GUS*, para esto fue necesario incluir un control positivo de plantas transformadas con la construcción *35S::GUS*, y como control negativo se utilizaron plantas de fresa sin transformar. Se realizó un muestreo de hojas jóvenes y la extracción de RNA (Materiales y Métodos). Se llevó a cabo un análisis mediante una RT-PCR semicuantitativa seguida de una qRT-PCR (Figura 15). En la PCR semicuantitativa, el control CC (control camarosa) sin ninguna transformación, no presentó banda perteneciente al gen de *GUS*, el control *35S::GUS* mostró una banda muy intensa y las bandas de las líneas doble transgénicas mostraron una banda con intensidad media, incluyendo el control de regeneración (Figura 15 A). En la qRT-PCR se observó que la línea 12 y 13 mostraron una expresión menor que el control de regeneración y que el control positivo. La planta 9 mostró una expresión muy parecida al control de regeneración el cual tiene la transformación *DR5::GUS* (Figura 15 B). Se realizó un seguimiento en la aparición de flores de las plantas doble transgénicas seleccionadas para poder caracterizarlas.

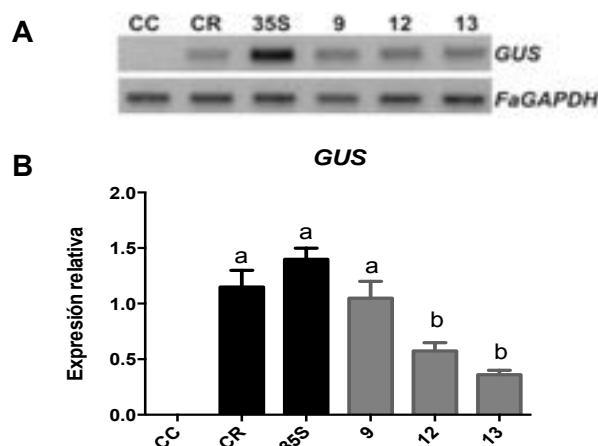


Figura 15. Expresión del gen *GUS* en las líneas *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1*. (A) RT-PCR semicuantitativa en hojas de las líneas doble transgénicas (9, 12 y 13). Como control negativo se empleó CC, que es el control Camarosa sin transformar; CR es el control de regeneración de las líneas doble transgénicas y como control positivo (35S) se empleó la línea *35S::GUS*. **(B)** qRt-PCR de las líneas doble transgénicas 9, 12 y 13 (barras grises) y los controles CC, CR, 35S (barras negras). Se empleó a *FaGAPDH* como gen constitutivo interno. Se muestran los análisis de dos réplicas técnicas. Las diferentes letras indican diferencias significativas de acuerdo al método LSD de Fischer que se realizó con el programa Graph pad Prism 6.

Se realizó conteo de flores, abortos y frutos de las plantas 9, 12, 13 y control de regeneración en el primer año de estudio a lo largo de 4 meses.



Figura 16. Plantas doble transgénicas *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1* en el primer año de estudio. Las fotografías se realizaron en el mes de abril del primer año de estudio **(A)** Control de regeneración con la transformación *DR5::GUS* con frutos. Las plantas doble transgénicas *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1* de las líneas 9 y 12 muestran frutos y la línea 13 no muestra ni frutos ni flores.

En general, no se observó un fenotipo especial de las dobles transgénicas en relación al control, más allá de que el número de flores fue mayor en el control de regeneración, en comparación con las líneas doble transgénicas. Las flores producidas por los controles fueron alrededor de 40, mientras que para las líneas transgénicas entre 19-30 (Figura 16). Las flores de las líneas transgénicas 9 y 12 tardaron 5-7 días más en desarrollarse hasta llegar al fruto rojo en comparación con el control.

La línea 13 presentó cerca de 31 flores (Figura 17 A), más que las líneas 9 y 12, sin embargo, fue la que presentó mas abortos florales y al final del cuarto mes (Junio) presentó solo un fruto (Figura 17 B y C). Las plantas control son las que presentaron un mayor número de flores, frutos rojos y menor cantidad de abortos, en comparación con las líneas 9, 12 y 13 (Figura 17).

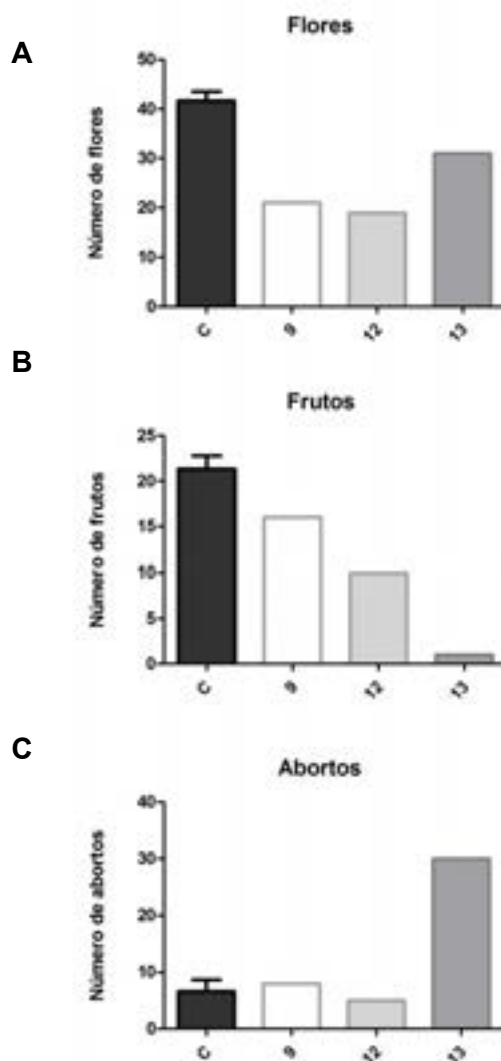


Figura 17. Caracterización de las plantas doble transgénicas *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1*. El conteo de las flores y seguimiento se realizó a finales de Febrero e inicios del mes de Junio, cada línea es una planta independiente. (A) Conteo de flores en el primer año de las plantas Control de regeneración, 9, 12 y 13. (B) Número de frutos rojos totales de las plantas Control, 9, 12 y 13 (C) Abortos florales de las plantas control, 9, 12 y 13. El conteo se realizó para el control con 3 plantas diferentes y para las líneas doble transgénicas (9,12y 13).

Discusión de resultados

La auxina participa en la regulación de casi todos los aspectos del crecimiento de las plantas y su desarrollo. La identificación de los genes implicados en la biosíntesis de auxina en el fruto de fresa, es de gran interés ya que esta hormona es clave en el desarrollo y maduración de éste. Aunque aún no se conocen por completo todas las vías de biosíntesis de auxina en plantas, la ruta mejor caracterizada hasta el momento es la que tiene como intermediario el ácido indol-pirúvico (IPA) (Mashiguchi *et al.*, 2011; Stepanova *et al.*, 2011). En este trabajo se han caracterizado y estudiado los genes de esta ruta en la maduración del fruto de fresa (*F. × ananassa*), tanto su actividad como su función. Los datos presentados suponen un paso adicional en la comprensión de la función de estos genes de biosíntesis de auxina en la maduración del fruto de la fresa.

Expresión de los genes de biosíntesis de auxina en la fresa *F. × ananassa* mediante análisis de qRT-PCR y RNA-seq

Estudios previos utilizando *Arabidopsis* sugieren que la vía predominante de la biosíntesis de auxina consiste de una vía lineal de dos pasos donde el triptófano se convierte en ácido indol 3-pirúvico por las enzimas TAA1/TARs y luego a IAA por las enzimas YUCCA (Stepanova *et al.*, 2011, Won *et al.* 2011). Los estudios de Stepanova *et al.*, (2008) refuerzan la idea de que la biosíntesis de la auxina juega un papel clave en la generación de gradientes de auxina. Un número de estudios en diferentes especies muestran que TAA1/TAR y la expresión génica YUCCA es alta en los tejidos de semillas y se correlaciona con la acumulación de auxina (Gallavotti *et al.*, 2008, LeClere *et al.*, 2010, Bernardi *et al.*, 2012; Pattison *et al.*, 2014), lo que sugiere que esta vía también es dominante en los frutos.

En nuestros resultados mediante análisis de expresión por qRT-PCR y RNA-seq se observó la expresión de los genes relacionados con la síntesis de auxina, triptófano aminotransferasas (*TAA1/TARs*) y flavín monooxigenasas YUCs (*YUCCA*) en frutos de fresa (*F. × ananassa*) en diferentes estadios de maduración. Estudios recientes de Kang *et al.*, (2013) sobre la biosíntesis de auxina durante el desarrollo de frutos de fresa, muestran que en los diferentes tejidos del aquenio (embrión, *ghost*

[que se refiere a la totalidad de la semilla con su embrión eliminado], y la pared del ovario) pueden ser el sitio principal de la biosíntesis de la auxina.

Nuestros datos concuerdan con los estudios de Kang, donde muestran una expresión mayor en los achenios para los genes *TAA1/TARs* y de los genes *YUCCA* (Figura 6 y 7), confirmando que la mayor cantidad de biosíntesis de la auxina se produce en los achenios. En los trabajos de Archbold y Dennis (1984) mostraron que la concentración de IAA libre en el receptáculo, que presentó su mayor valor a los 14 días después o post de la antesis (dpa) disminuyendo a los 17 dpa, no obstante, a partir de los 17 dpa se observó un incremento a lo largo de la maduración hasta los 23 dpa. Por el contrario, en los estudios de Symons *et al.*, mostraron que cuando la fresa cambia a color rojo la concentración de IAA fue disminuyendo (Symons *et al.*, 2012). En nuestros datos de expresión, hay que resaltar que algunos genes como: *FaTAA1*, *FaTAR2*, *FaYUC2* y *FaYUC7* mostraron expresión en las últimas etapas de maduración en el receptáculo, siendo el gen *FaTAR2* el que muestra su mayor valor en estadio rojo siendo una observación similar a los estudios de Archbold y Dennis (1984). Nuestros resultados confirman que en la fresa, la mayor expresión de la biosíntesis de auxina es en los achenios, en las primeras etapas de desarrollo. Sorprendentemente también encontramos que hay expresión en las últimas etapas de desarrollo en los receptáculos, estos nuevos datos no han sido observados en frutos y nos sugieren que podría haber una nueva síntesis de auxina en este estadio de maduración del receptáculo. Las repercusiones que estos cambios tienen en el desarrollo, las trataremos de explorar en este trabajo.

La proteína FaTAA1 tiene actividad triptófano aminotransferasa *in vitro*

Para proporcionar evidencia directa de que la proteína aminotransferasa FaTAA1 cataliza la conversión de Trp a IPA, fue necesario realizar un ensayo enzimático utilizando FaTAA1 fusionada a GST en su extremo amino terminal y producida mediante la expresión heteróloga en *Escherichia coli*. En trabajos anteriores, Stepanova *et al.*, (2008) midieron la actividad enzimática de la proteína fusionada GST-TAA1 de *Arabidopsis* tanto en gel, como en HPLC y LC-MS, dando como producto de la reacción el IPA, demostrando que la enzima activa de GST-AtTAA1 produce IPA *in vitro*. En nuestros estudios, logramos la expresión, la

purificación y la comprobación de la actividad *in vitro* mediante la metodología de Stepanova *et al.*, y He *et al.*, (2008 y 2011), de la proteína de fusión GST-FaTAA1. Primero, la actividad triptófano-aminotransferasa de nuestra proteína GST-FaTAA1, se comprobó en gel. Posteriormente se confirmó e identificó el producto IPA, que es el resultado de la reacción de la actividad de la enzima GST-FaTAA1, mediante los cromatogramas de HPLC.

Los estudios de He *et al.*, (2011) trataron de medir la actividad de las proteínas de *Arabidopsis* TAA1 y las proteínas relacionadas TAR, lograron purificar y medir la actividad mediante HPLC de la proteína TAR1 la cual mostró actividad *in vitro* al producir IPA, pero no pudieron purificar GST-TAR2. A pesar de varios intentos, no logramos la expresión de la proteína GST-FaTAR2 por este método, al igual que en He *et al.*, (2011). No tenemos una explicación de esta dificultad de producción y purificación de FaTAR2, pero probablemente está relacionada a las diferencias en su estructura primaria en relación a FaTAA1 y, probablemente, a FaTAR1. La solución debe estar en diseñar fusiones diferentes de GST o fusiones con otros péptidos que permitan su purificación por cromatografía de afinidad.

De acuerdo con los patrones de expresión la proteína FaTAA1 se debe producir, en el receptáculo rojo de fresa, quizás a niveles bajos en comparación con otros tejidos/estadios. La proteína GST-FaTAA1, cataliza la conversión de Trp a IPA, dándonos la evidencia de la actividad de la proteína de fresa. Sabemos que en la ruta de biosíntesis de IPA, el intermediario ácido indol 3-pirúvico es el sustrato para producir finalmente IAA, mediante la actividad enzimática de los genes *YUCCA*. Mashiguchi *et al.*, purificaron la enzima GST-YUC2 de *Arabidopsis*, y midieron la actividad enzimática mediante HPLC a partir de IPA y el producto resultante de la reacción fue IAA, lo que fue confirmado por LC-ESI-MS/MS, demostrando de esta manera que los genes *YUCCA* catalizan la conversión de IPA a IAA (Mashiguchi *et al.*, 2011). En nuestros estudios hemos mostrado que dos miembros de la familia *FaYUC*, *FaYUC2* y *FaYUC7*, tienen expresión en el receptáculo maduro, aunque el nivel de expresión es bajo.

También hay que tener en cuenta que hay otras rutas de biosíntesis de la auxina. Estudios en nuestro laboratorio identificaron al gen homólogo de *Arabidopsis* *CYP79B2* en *F. vesca*, perteneciente a la ruta IAOx, analizando su expresión mediante qRT-PCR en *F. × ananassa*, dando su mayor valor en el receptáculo rojo (datos no mostrados). La ruta IAOx no se considera que participe como ruta principal en la biosíntesis de auxina, ya que al eliminar por completo a su intermediario IAOx en

Arabidopsis, se observaron defectos sutiles en el crecimiento de pocas plantas (Won *et al.*, 2011). No obstante, al expresarse en los últimos estadios de maduración del receptáculo, nos indica no se puede excluir que pueda tener importancia en la síntesis de la auxina de la fresa *F. × ananassa* en este estadio.

Silenciamiento transitorio mediante RNAi del gen triptófano aminotransferasa en *F. × ananassa*

El silenciamiento por RNAi es una herramienta que ayuda a conocer la función de genes. Esta herramienta, usada transitoriamente, ha sido probada anteriormente en frutos de fresa (Hoffmann *et al.*, 2006; Muñoz *et al.*, 2012; Casañal, 2014; Vallarino *et al.*, 2015) y tiene en este caso la ventaja de poder limitar temporal y espacialmente el silenciamiento. En nuestro caso, donde el estudio está centrado en el desarrollo y maduración del receptáculo es una herramienta adecuada.

Los genes que se seleccionaron para silenciar fueron *FaTAA1* y *FaTAR2*, pues ambos se expresaban en receptáculo y su expresión aumentaba con la maduración, aunque *FaTAR2* presentó claramente una mayor expresión que *FaTAA1* en el receptáculo maduro. Al inyectar las construcciones *pBI-FATAA1i* no se logró identificar un silenciamiento de este gen en los frutos inyectados (datos no mostrados). Esto puede deberse bien a que el nivel de expresión es muy bajo lo que dificulta la cuantificación por qRT-PCR, o bien que la secuencia seleccionada para la construcción de silenciamiento correspondiente a *F. vesca*, tuviera diferencias de nucleótidos con la de *F. × ananassa*, que no es conocida. Sin embargo, en el caso de la construcción *pBI-FaTAR2i*, dos de los frutos, de un total de doce, mostraron un silenciamiento parcial, casi un 70%, en el gen *FaTAR2* en comparación con los frutos control.

La efectividad de este silenciamiento se comprobó también por seguimiento de la expresión de genes que se conoce que son regulados por la auxina. Los primeros pasos en la recepción y señalización por auxinas están relativamente bien conocidos (Salehin *et al.*, 2013). En el caso de las proteínas Aux/IAA se sabe que actúan como represoras de la expresión dependiente de auxina, pero a su vez están transcripcionalmente reguladas por auxina (Benjamin y Scheres, 2008; Pattinson *et al.*, 2014). Así pues, la expresión disminuida de *FaAux/IAA8a* y *FaAux/IAA11* en el receptáculo silenciado es una clara indicación de disminución del nivel de la auxina, aunque esta disminución no pudiera detectarse por medida directa de la auxina. En la

regulación transcripcional por auxina las proteínas represoras del tipo Aux/IAA interaccionan con los factores de transcripción del tipo ARF (Guilfoyle y Hagen, 2012). Aunque no está probada en todos los casos, existe una especificidad entre los Aux/IAA y los correspondientes ARFs. En relación a estos genes, no está descrito que respondan transcripcionalmente a auxina, sin embargo en el receptáculo de fresa donde *FaTAR2* fue silenciado, respondieron de forma opuesta los genes *FaARF4* y *FaARF6a*. Disminuyeron los transcritos del gen *FaARF6a* cuya expresión aumentaba con la maduración, en tanto disminuyó la transcripción del gen *FaARF4* cuya expresión disminuía con la maduración. De los 23 genes ARF de *Arabidopsis*, de los cuales *ARF5-ARF8* y *ARF19* son activadores de la transcripción, mientras que *ARF2-ARF4* y *ARF9* han demostrado ser represores transcripcionales, y el resto de los ARF, se cree que son represores también (Guilfoyle *et al.*, 2007; Peer, 2013). Basado en la similitud de secuencias con los genes *FaARF4* y *FaARF6a* de fresa *F. × ananassa*, se puede especular que uno puede comportarse como activador y el otro como represor al igual que sus homólogos en *Arabidopsis* que son *ARF4 (AT5G60450)* y *ARF6 (AT1G30330)*. Esto podría explicar que el gen *FaARF4* al ser un posible represor transcripcional y al estar disminuida la cantidad de auxina tiene una alta expresión en el fruto RNAi 4, muestra más actividad reprimiendo la transcripción de los genes con respuesta a auxina. De la misma forma en el fruto RNAi 4, la expresión del gen *FaARF6a*, al ser un activador de la transcripción, muestra una disminución en su actividad ya que hay niveles bajos de auxina y no se lleva a cabo la transcripción. De cualquier forma, el significado de estos cambios merecería un análisis posterior, pues en fresa, como en otras especies es una familia compleja, y con cambios de expresión importantes durante la maduración de los frutos.

Plantas doble transgénicas *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1*

La generación de líneas transgénicas en plantas, proporciona medios eficaces para el estudio de la acción de genes durante el desarrollo y otros procesos biológicos de las plantas. Por esto se decidió generar plantas transgénicas para estudiar la importancia y el efecto de la sobreexpresión del gen de biosíntesis de auxina *AtTAA1* en la fresa.

Sabemos que el gen *TAA1* en *Arabidopsis* juega un papel crítico en la embriogénesis, el desarrollo de la flor, el crecimiento de las plántulas, patrón vascular, formación de raíces laterales, tropismo y elongación del hipocotilo dependiente de la temperatura (Stepanova *et al.*, 2008; Tao *et al.*, 2008; Yamada *et al.*, 2009). Se han realizado estudios de sobreexpresión del gen *TAA1* y *YUCCA* en *Arabidopsis* mostrando que actúan sinérgicamente para aumentar los niveles de IAA (Stepanova *et al.*, 2008; Masiguchi *et al.*, 2011). Los estudios de Stepanova *et al.*, refuerzan la idea de que, además de la función indiscutible del transporte y la respuesta de la auxina, la biosíntesis de esta hormona juega un papel clave en la generación de gradientes de auxina (Stepanova *et al.*, 2008). Por lo que se decidió sobreexpresar el gen *TAA1* de *Arabidopsis* fusionado a GFP en la cadena amino terminal, en las plantas de fresa y ver su funcionalidad. Esta transformación se llevo a cabo en las plantas de fresa anteriormente transformadas en nuestro laboratorio con el gen β -glucuronidasa (*GUS*) bajo el control del promotor *DR5*. Se seleccionaron estas plantas *DR5::GUS*, porque son un indicador fiable de la señalización de salida de la auxina (Brunoud *et al.*, 2012). En la generación de las plantas doble transgénicas *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1* se planteó incrementar la biosíntesis de la auxina, provocando que la cantidad de IAA también incrementara, al igual que el gen reportero *GUS*.

La expresión del gen *AtTAA1* en las plantas *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1*, nos indican que estas plantas están sobreexpresando el gen *AtTAA1* de *Arabidopsis*. En el primer año de estudio, no se observaron cambios en el contenido de las auxinas comparados con el control, ni un aumento en la expresión del gen *GUS*. Esto puede deberse a: 1) Que la proteína *AtTAA1* no se esté produciendo de forma funcional en las plantas de fresa, en lo que puede influir su producción como proteína de fusión. 2) Que la expresión de *AtTAA1* no sea suficiente para modificar de forma importante el flujo a través de la ruta metabólica de biosíntesis de auxina. Esta posibilidad estaría de acuerdo con estudios previos donde el gen *AtTAA1*, no media un paso limitante de la velocidad en la biosíntesis de IAA (Tao *et al.*, 2008; Masiguchi *et al.*, 2011). La disminución en la expresión del gen *GUS* en las plantas transgénicas puede deberse a que este perdiendo efecto de la primera transformación (*DR5::GUS*) al realizar la segunda transformación (*35S::GFP-AtTAA1*).

A pesar de no haber detectado un incremento en la cantidad de IAA, ni en la expresión del gen *GUS*, las plantas *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1* mostraron algunos rasgos fenotípicos diferenciales que merecen ser considerados. Así se comprobó que presentaban menos floración en comparación con el control, en especial las plantas 9 y 12. Por lo tanto, presentaron menos frutos comparado con el control, sin embargo,

en el último mes de estudio la producción de flores fue mucho mayor, principalmente en la línea 13, que también presentó la mayor cantidad de abortos. Estudios muestran que la inhibición del transporte polar de auxina conduce a la acumulación de IAA en meristemas a niveles que son inhibidores para la formación de nuevos órganos (Cheng Y *et al.*, 2007). Esto puede indicarnos que al aumentar la sobreexpresión del gen *AtTAA1* afecta la acumulación de la auxina en los meristemas, y aunque no vimos diferencias significativas en la acumulación de IAA en hojas, la sobreexpresión del gen *AtTAA1* pueda retrasar y afectar la formación de las flores.

Las plantas *DR5:GUS 35S:GFP-AtTAA1* son una herramienta para comprender la importancia de la biosíntesis de la auxina, ya que al sobreexpresar el gen *AtTAA1* en las plantas de fresa nos han mostrado algunos cambios en la floración y desarrollo de frutos en su primer año de estudio, por lo que estas plantas deben ser analizadas con más detalle en las siguientes temporadas.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Capítulo 2:

Análisis transcriptómico para el estudio del etileno en plantas de fresa insensibles a esta hormona.

Materiales y Métodos

Material Vegetal

Las líneas de fresa (*Fragaria × ananassa* cv. Chandler) transformadas con el gen mutado del receptor de etileno *etr1-1* (*ethylene resistant 1*) de *Arabidopsis* bajo el promotor 35S se emplearon para el análisis de expresión por RNA-seq (líneas 10, 12 y el correspondiente control) (Merchante *et. al.*, 2013a). Las plantas transgénicas crecieron en invernaderos del Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria (IFAPA, Churriana, Málaga). Los frutos se cosecharon en el estadio de maduración *turning* (intermedio) (Figura 1) y fueron congelados con nitrógeno líquido inmediatamente después de su recolección. Los frutos se dividieron en tres réplicas biológicas, con 4 frutos en el mismo estadio (Figura 1) para cada línea transgénica. Se eliminaron los achenios con la punta de un bisturí (el fruto siempre se mantuvo congelado) y los receptáculos se maceraron en nitrógeno líquido. Los tejidos se almacenaron a -80 °C hasta su uso.



Figura 1. Estadio intermedio de frutos de fresa (*Fragaria × ananassa* cv. Chandler).

Librerías de cDNA y RNA-seq

Para la extracción de RNA se empleó el protocolo descrito en el capítulo 1 de Materiales y Métodos. La calidad y cantidad del RNA se determinó con los coeficientes de absorbancia de 260/280 nm y 260/230 nm mediante el *Nanodrop 2000*. La integridad del RNA se confirmó mediante electroforesis en geles de agarosa, donde se pueden apreciar las bandas del RNA ribosomal. Posteriormente se realizó un tratamiento de DNasa para eliminar el DNAg (capítulo 1 de Materiales y Métodos). La integridad de las muestras se verificaron usando el Bioanalizador 2100 de *Agilent Technologies* mediante el parámetro RIN (*RNA Integrity Number*), obteniendo un rango del valor de RIN entre 7.2 y 8.8 para todas las muestras. Las librerías se prepararon a partir de 3 réplicas biológicas del receptáculo en estadio intermedio para cada una de las líneas transgénicas (*etr1-1* L10 y L12) y el control. Se emplearon 10

µg de RNA total para cada réplica. La secuenciación y preparación de las librerías se hizo en *Beijin Genome Institute* (BGI) (Hong Kong) mediante la plataforma *Illumina HiSeq 2000*, donde se realizaron 2 lecturas con extremos pareados (*pair ends*) de 100 pb de tamaño, obteniéndose entre 20 a 30 millones de lecturas para cada muestra.

Obtención y análisis de los datos de expresión por RNAseq

Los datos sin procesar de RNA-seq se introdujeron en el programa *CLC Genomics Workbench 7.0*. Un primer paso fue la eliminación de adaptadores y lecturas de baja calidad, para ello se estableció un límite de calidad (evaluado por el programa como *quality score*) de 0.02. El control de calidad de las lecturas se realizó antes y después de este paso previo, mediante el programa *FastQC* (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Las lecturas del RNA-seq con la calidad esperada, fueron mapeadas contra los genes del genoma de referencia de *Fragaria vesca v1.1* obtenido de la base de datos de *Rosaceae* (GDR <http://www.rosaceae.org/>, Shulaev *et al.*, 2011). El mapeo de las lecturas en el genoma de referencia se llevó a cabo con los parámetros predeterminados en el programa, donde el número de desajustes permitido fue de 2 (*mismatches*), el costo de inserción y deleción de 3, fracción mínima de longitud 0.9 (al menos el 90 % de las bases tienen que alinear con la referencia) y número máximo de aciertos (*hits*) para una lectura de 10. Para normalizar el número de las diferentes lecturas mapeadas entre las muestras, se utilizó la medida de expresión: lecturas por kilobase de exón por millón de lecturas mapeadas RPKM (*Reads Per Kilobase of exon model per Million mapped reads*) (Mortazavi *et al.*, 2008).

El análisis de expresión diferencial se expresó como el ratio de expresión de RPKM, entre las líneas transgénicas respecto al control. El análisis estadístico se realizó mediante la distribución Gaussiana en donde se compararon esencialmente el nivel de expresión media entre grupos (la línea *etr1-1* L10 ó L12 y el control) mediante *t-test* con la corrección de la tasa de descubrimientos de falsos positivos (*FDR*). Esta tasa de falsos descubrimientos es la proporción de falsos positivos entre todos los declarados positivos. Con esto se obtuvo que del 5% de las características con la corrección FDR los falsos positivos estén por debajo de 0.05

El programa *MapMan* (Thimm *et al.*, 2004) se empleó para analizar funcionalmente y visualizar los datos de las diferencias de expresión de los genes, mediante diagramas y rutas metabólicas.

Resultados

Estudios del gen *TAA1* y sus parálogos (*TARs*) en *Arabidopsis*, han revelado que en el desarrollo de órganos existe un vínculo entre la producción local de la auxina y los efectos del etileno en tejidos específicos (Stepanova *et al.*, 2011). Es por esto que anteriormente en nuestro laboratorio se realizaron análisis de expresión mediante qRt-PCR de los genes de biosíntesis de las auxinas en fresa (*FaTAA1* y *FaTAR2*) en las líneas transgénica de fresa expresando *etr1-1* de *Arabidopsis*. El estudio mostró que en el receptáculo maduro de los frutos transgénicos tanto *FaTAA1* como *FaTAR2* tenían aumentada la expresión de ambos genes en comparación con el control (resultados no publicados). Por este motivo se decidió realizar un análisis de expresión por RNA-seq en el estadio intermedio de los frutos *etr1-1*.

Análisis de expresión mediante RNA-seq en frutos transformados con el gen mutado de *Arabidopsis etr1-1*

Se decidió analizar mediante el método de RNA-seq la expresión en frutos de las líneas transgénicas de fresa *F. × ananassa*, cv. Chandler, transformadas con el gen mutado del receptor de etileno, *etr1-1*, de *Arabidopsis*, generadas anteriormente en nuestro laboratorio (Merchante *et al.*, 2013a). Se eligió estudiar el receptáculo en estadio intermedio, sin aquenios, para llevar a cabo el análisis de expresión. La selección de este estadio se hizo sobre la hipótesis de que en éste estado de desarrollo de acuerdo a los datos disponibles en la bibliografía indicaban que la producción del etileno era mayor (Merchante *et al.*, 2013a). Para comprobar que los frutos expresaban el gen de *Arabidopsis etr1-1*, se realizó una RT-PCR semicuantitativa empleando a *FaGAPDH* como gen constitutivo (Figura 2). En esta Figura se comprueba la expresión del gen *etr1-1*, en las líneas transgénicas (L10 y L12) en las tres réplicas biológicas respecto a las muestra control (C).

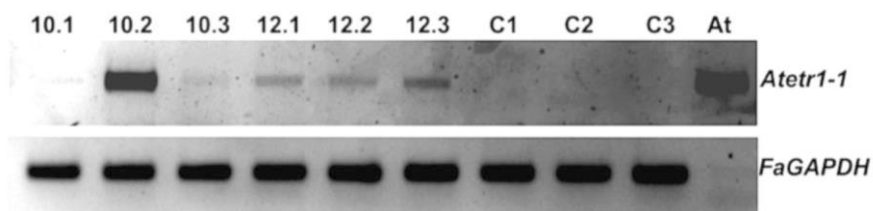


Figura 2. Expresión del gen de *Arabidopsis etr1-1* en frutos de fresa en estadio intermedio de las líneas transgénicas *etr1-1* L10, L12 y control, mediante RT-PCR semicuantitativa. La línea *etr1-1* 10 tiene tres réplicas biológicas (10.1, 10.2, 10.3), al igual que la línea *etr1-1* 12 (12.1, 12.2, 12.3) y el control (C1, C2 y C3). Como control positivo se

empleo cDNA de *Arabidopsis* (At) y como control constitutivo interno se empleó al gen *FaGAPDH*.

La preparación de las muestras y el análisis bioinformáticos de los resultados del RNA-seq (realizado en el programa *CLC Genomics Workbench*), se describe en Materiales y Métodos. Un total de 32 831 genes/transcritos fueron identificados en ambas líneas transgénicas *etr1-1* L10 y L12, tomando como referencia el genoma de *Fragaria vesca* v1.1 obtenido de la base de datos de Rosaceae (GDR <http://www.rosaceae.org/>). Las diferentes lecturas fueron normalizadas mediante la medida de expresión: lecturas por kilobase de exón por millón de lecturas mapeadas RPKM (*Reads Per Kilobase of exon model per Million mapped reads*) (Mortazavi *et al.*, 2008). El análisis estadístico, se llevó a cabo mediante el método de *t*-Student estableciendo como límite un *p-value* de $P < 0.05$ para ambas líneas. Se identificaron 1214 genes con expresión diferencial significativa en relación al control para la línea *etr1-1* L12 y para la línea L10, se obtuvieron 685 genes diferencialmente expresados. Un total de 120 genes fueron significativos en ambas líneas (Tabla 1 de Anexos)

Identificación del gen *etr1-1* de *Arabidopsis* en datos de RNA-seq

Para la identificación la expresión del gen *Atetr1-1* en los estudios del RNA-seq en *F. × ananassa*, se realizó blastx con la secuencia de *etr1-1* para identificar los genes homólogos en *F. vesca*. Los resultados del blastx nos permitieron identificar 4 genes en *F. vesca* con alta y media identidad en la secuencia de proteínas. Así, se obtuvo una identidad en aminoácidos del 79 % con el gen *Fv21106*, para el gen *Fv11090* la identidad fue del 63 %, y para los genes *Fv32532* y *Fv16612* casi el 40 % de identidad. El gen *Fv21103* mostró una alta identidad casi del 82 % en la secuencia de proteínas, sin embargo, solo tiene en el genoma de *F. vesca* 144 aminoácidos (435 nucleótidos), mientras que los demás genes homólogos a *Atetr1-1*, incluido éste, tienen entre 640 y 740 aminoácidos, por lo que se decidió no considerarlo en los siguientes análisis de los resultados. Estudios de expresión de los genes receptores de etileno en la fresa (*FaETR1* y *FaETR2*), han sido analizados durante la maduración del fruto (Trainotti *et al.*, 2005; Merchante *et al.*, 2013a). Es por esto que los hemos incluido en los siguientes análisis.

Se decidió, realizar un dendograma entre las proteínas de los genes *Atetr1-1*, *FaETR1*, *FaETR2*, *Fv21106*, *Fv11090*, *Fv32532*, y *Fv16612* para identificar a las proteínas más cercanas del gen de *Arabidopsis* (Figura 3). En el dendograma

rectangular, se observó que las proteínas mas cercanas a AtETR1-1 fueron Fv21106, FaETR1 y aunque está más alejado, la proteína Fv11090.

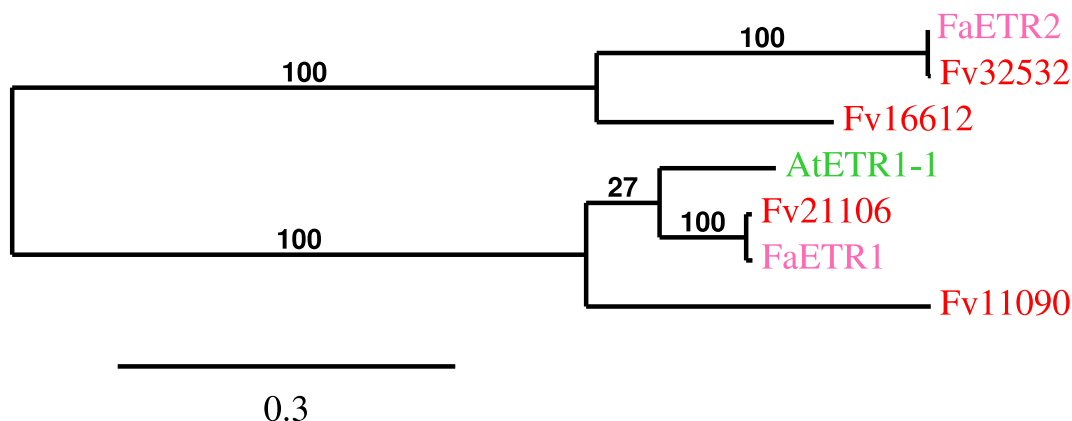


Figura 3. Dendrograma rectangular de las secuencias de proteínas de los genes homólogos a *Atetr1-1* en *F. vesca* y *F. x ananassa*. En color verde se encuentra la proteína de *Arabidopsis etr1-1*. En color rojo, son las proteínas de *F. vesca*, en rosa la secuencias de proteínas en *F. x ananassa*. El bootstrap esta dado en porcentaje. El dendrograma se generó en el programa en línea <http://www.phylogeny.fr> (Dereeper *et al.*, 2010).

Posteriormente, se realizó un alineamiento de nucleótidos del gene *Atetr1-1* y sus homólogos en *F. vesca* y en *F. x ananassa* (Figura 4). El alineamiento mostró que las secuencias de nucleótidos que alinean conjuntamente mejor con *Atetr1-1*, fueron la de los genes *FaETR1*, *Fv21106* y *Fv11090*, mientras que los genes *Fv16612*, *Fv32532* y *FaETR2* mostraron un mejor alineamiento entre ellos. En el alineamiento se muestra una G en rojo en el nucleótido 194 de la secuencia de *Atetr1-1*, que corresponde a la mutación y que tiene como resultados el cambio de cisteína a tirosina en la secuencia aminoacídica, dando como resultado una mutación dominante que conduce a la insensibilidad a etileno en estos mutantes (Chang C *et al.*, 1993).

En los datos de RNA-seq, se buscaron los valores de RPKM de los genes homólogos, a *Atetr1-1*, sin embargo, ninguno mostró una diferencia significativa. En la Tabla 1 se encuentran todos los genes homólogos, con los valores de RPKM tanto en control, como en las líneas *etr1-1* L10 y L12, y se realizó la sumatoria de sus valores de RPKM.

En la Tabla 1 se observa en el total una diferencia con valores mayores en la L12 (33.56) con respecto a la sumatoria de los RPKM del control (28.56), sin embargo, en la línea L10 (27.06), presenta valores menores en el total que el control. No se pudo identificar al gen homólogo de *Atetr1-1* en los datos de RNA-seq. Lo más probable, sin embargo, es que las secuencias correspondientes a *etr1-1* no fueran mapeadas, al menos parcialmente, en el genoma de *F. vesca*, habida cuenta de las restricciones establecidas por el programa de análisis.

Capítulo 2: Análisis transcriptómico para el estudio del etileno en plantas de fresa insensibles a esta hormona

```

FaETR1      1  -----ATG---GAGGCCT---GTAAGT---TATCGAGC
Fv21106     1  -----ATG---GAGGCCT---GTAAGT---TATCGAGC
Atetr1-1    1  -----ATG---GAAGTCT---GCAATTG---TATTGAAC
Fv11090     1  -----ATG---GAGTCAT---GTGATTG---TGTTGAGG
Fv32532     1  -----ATGTTAAAGCATTAGCATCTGGGCTATCGATT
FaETR2      1  -----ATGTTAAAGCATTAGCATCTGGGCTATCGATT
Fv16612     1  ATGGTGAATGATAGTCACTTGGGTGTAATGTTGAGAGCAGTAGCTATTGGTGTGTAGTT
  
```

```

FaETR1      26  CCC-----AATGGC-----CGCCGATG-----AGCTAC--T
Fv21106     26  CCC-----AATGGC-----CGCCGATG-----AGCTGT--T
Atetr1-1    26  CCC-----AATGGC-----CAGCCGATG-----AATTGT--T
Fv11090     26  CAC-----AATGGC-----CCCCTGATG-----AACTTC--T
Fv32532     34  TCTTTGCTACTGGTGTGTGTTTCGGCGCTCTGATGGTGGATTCCGCGGTGCAATTGTGAC
FaETR2      34  TCTTTGCTACTGGTGTGTGTTTCGGCGCTCTGATGGTGGATTCCGCGGTGCAATTGTGAC
Fv16612     61  TCCATATCTACTGGTATCTGTTTCAGCCCATGATAGTGAATTTGCGAGTTGTAATTGTGAT
  
```

```

FaETR1      51  CATCA-----AGTATCAATA---CATTTCCGA-----CTTT
Fv21106     51  GATCA-----AGTATCAATA---CATTTCCGA-----CTTT
Atetr1-1    51  AATCA-----AATACCAATA---CATCTCCGA-----TTTT
Fv11090     51  GGTGA-----AGTATCAATA---CATATCCGA-----TGTG
Fv32532     94  GACGAGGGAAGCTTCTGGAGCATTGATAGCATACTAGAATGTCAACGAGTGAGCGATTTTC
FaETR2      94  GACGAGGGAAGCTTCTGGAGCATTGATAGCATACTAGAATGTCAACGAGTGAGCGATTTTC
Fv16612     121  GATGAGGG---TTCTTGGAGCATTGAGTATTTTGGAGTGTGAGAGACTTAGTGATTTTC
  
```

```

FaETR1      79  TTTATTGCTCTTGGCTATTTTTTCATCCCTCTAGAGTTGATATACTTTGTGAAGAAATCT
Fv21106     79  TTTATTGCTCTTGGCGTATTTTTTCATCCCTCTAGAGTTGATATACTTTGTGAAGAAATCT
Atetr1-1    79  TTTATTGCGATTGGCGTATTTTTTCGATTCCTCTAGAGTTGATTTACTTTGTGAAGAAATCT
Fv11090     79  TTTATTGCGTTGGCGTATTTTTTCGATTCGAGCTCATATACTTTGTGAGAAATCT
Fv32532     154  TTGATCGCGTGGCCTACTTTTTCGATCCCCATTGAGCTGCTTTACTTTGTGAGCTGCTCG
FaETR2      154  TTGATCGCGTGGCCTACTTTTTCGATCCCCATTGAGCTGCTTTACTTTGTGAGCTGCTCG
Fv16612     178  ATGATTGCTCTTGGCGTATTTTTTCGATCCCTCATAGAGCTCATTTACTTTGTGAGCTGCTCA
  
```

```

FaETR1      139  GCGGTGTTTCCCTATAGATGGGTCTTTGTCAGTTTGGTGCATTCATTGTGTTGTGCGGC
Fv21106     139  GCGGTGTTTCCCTATAGATGGGTGCTTTGTCAGTTTGGTGCATTCATCGTGTGTTGTGCGC
Atetr1-1    139  GCGGTGTTTCCCTATAGATGGGTACTTTGTCAGTTTGGTGCCTTTTATCGTTCCTTTTGGGA
Fv11090     139  GCTTTCTTTCCCTATAGATGGGTGCTTTGTCAGTTTGGTGCCTTTTATTGCTTCCTTTTGGGA
Fv32532     214  AATG---TACCTTTCAATGGGTCTCTTTGAGTTTATGCTTTCATTGTGCTATGTGGA
FaETR2      214  AATG---TACCTTTCAATGGGTCTCTTTGAGTTTATGCTTTCATTGTGCTATGTGGA
Fv16612     238  AACT---TTCCATTCATGGGTCTCTTTGAGTTTATGCTTTCATTGTGCTATGTGGA
  
```

```

FaETR1      199  GCCACCATCTTATTAACCTTGTGGACTTT-----TCAACA-----TGCATTCTAG
Fv21106     199  GCCACCATCTTATTAACCTTGTGGACTTT-----TCAACA-----TGCATTCTAG
Atetr1-1    199  GCAACTCATCTTATTAACCTTGTGGACTTT-----TCACTA-----CGCATTCCGAG
Fv11090     199  GCAACCCATTTCAATAAATGTGTGGACAT-----TCTCTA-----TGCACACCAA
Fv32532     271  ATGACACATTTGCTGAATGGCTGGACTTTAT---GGTCCTCA-----CCCGTTTCAG
FaETR2      271  ATGACACATTTGCTGAATGGCTGGACTTTAT---GGTCCTCA-----CCCGTTTCAG
Fv16612     295  TTGACCATTTGCTCAATGCCCTGGACTTTATTATGGCCCTCATACTACTCACTCGTTCCAA
  
```

```

FaETR1      243  GACTGTGGCTATAGTTATGACTACTGCCAAGGTTCTGACTGCTGTGGTTCGTGCGCCAC
Fv21106     243  GACTGTGGCTATAGTTATGACTACTGCCAAGGTTCTGACTGCTGTGGTTCGTGCGCCAC
Atetr1-1    243  AACCGTGGCGCTTGTGATGACTACCGCGAAGGTGTTAACCGCTGTTGTCTCGTGTGCTAC
Fv11090     243  AACTGTGGCACTGCTGATGACTATTGCAAGGTTCTCTGTGCTGTTGTGCTCGTGTGCAAC
Fv32532     319  --TTGATGC---TCGCTCTCACACTTTTCAAATTTCTCACTGCACTTGTATCATGTGCCAC
FaETR2      319  --TTGATGC---TCGCTCTCACACTTTTCAAATTTCTCACTGCTCTTGTATCATGTGCCAC
Fv16612     355  --TTGATGC---TTCCCTCACCAATTCCAAACCTCCTCACGGCCTTGGTCTCGTGTGCAAC
  
```



Capítulo 2: Análisis transcriptómico para el estudio del etileno en plantas de fresa insensibles a esta hormona

FaETR1 303 CGCATTGATGCTTGTGCATATAATTCCTGACTTGTGAGTGTTAAGACTAGGGAGTTGTT
Fv21106 303 CGCATTGATGCTTGTGCATATAATTCCTGACTTGTGAGTGTTAAGACTAGGGAGTTGTT
Atetr1-1 303 TGCATTGATGCTTGTGCATATAATTCCTGACTTGTGAGTGTTAAGACTAGGGAGTTGTT
Fv11090 303 GCGTTGATGCTTGTGCATATAATTCCTGACTTGTGAGTGTTAAGACTAGGGAGTTGTT
Fv32532 375 AGCTATAACGCTCTCACCTCTTATTCCTTTGCTTCTCAAAGTCAAAGTGAAGAGAAATTCAT
FaETR2 375 AGCTATAACGCTCTCACCTCTTATTCCTTTGCTTCTCAAAGTCAAAGTGAAGAGAAATTCAT
Fv16612 411 TGCATAACCTATTAACCTCTTATTCCTTTGCTTCTCAAAGTCAAAGTGAAGAGAAATTCAT

FaETR1 363 TTTGAAGAATAAGGCTGCGGAGCTTGATAGAGATATGGGGCTGATTAGGACTCAGGAGGA
Fv21106 363 TTTGAAGAATAAGGCTGCGGAGCTTGATAGAGATATGGGGCTGATTAGGACTCAGGAGGA
Atetr1-1 363 CTTGAAATAAAGGCTGCTGAGCTCGATAGAGATATGGGGATTCGAACTCAGGAAGA
Fv11090 363 TCTCAAGAATAAAGGCTGAAGAGCTTGACAGAGAGATGGGTCTTATTCTAACTCAGGAAGA
Fv32532 435 GTTGAAGAAGAAAAGCTGGGACCTTGCAAGAGAGCTTGGAAATTATAATGAGACAGAAAGA
FaETR2 435 GTTGAAGAAGAAAAGCTGGGACCTTGCAAGAGAGCTTGGAAATTATAATGAGACAGAAAGA
Fv16612 471 CTTGATGCAAGATGTGTTGGAGTTAGACCAGAGATTTGGCATGATGAAAGATACAGAAAGA

FaETR1 423 AACTGCTCGGCATGTTAGCATGCTGACCCATGAGATCAGCAGTACTCTTGATAGGCATAC
Fv21106 423 AACTGCTCGGCATGTTAGCATGCTGACCCATGAGATCAGCAGTACTCTTGATAGGCATAC
Atetr1-1 423 AACCGAAGGCATGTTAGAAATGTTGACTCATGAGATTAGAAGCACTTTAGATAGACATAC
Fv11090 423 AACCGAAGGCATGTTAGAAATGCTGACACATGAGATTAGAAGCACACTTGAAGAGACAC
Fv32532 495 ACCTGGAATGCATGTCGGAATGCTTACCCTAAGAGATTCCGCAAGTCCCTTGATAGACATAC
FaETR2 495 ACCTGGAATGCATGTCGGAATGCTTACCCTAAGAGATTCCGCAAGTCCCTTGATAGACATAC
Fv16612 531 ACCGCTTGGCATGTTGGAATGCTGACCCAGGAATTAGCAAGTCACTCGATAAGCATAA

FaETR1 483 TATACTGAAACCACACTGCTTGGAGTTAGGTAGGACTTTGGCATTGGAAGAGTGTGCGTT
Fv21106 483 TATACTGAAACCACACTGCTTGGAGTTAGGTAGGACTTTGGCATTGGAAGAGTGTGCGTT
Atetr1-1 483 TATTTTAAAGACTACACTTGTGAGCTTGGTAGGACATTAGCTTTGGAGGAGTGTGCATT
Fv11090 483 TATACTGAAACCACACTTGTGAGCTTGGAAGGACTTTTGGCCCTTGAGGAATGCGCTTT
Fv32532 555 AATATTGTCACAAACCCTTTTGGAGCTATCTGAGACATTGGGTTTGCAGTACTGTGCAGT
FaETR2 555 AATATTGTCACAAACCCTTTTGGAGCTATCTGAGACATTGGGTTTGCAGTACTGTGCAGT
Fv16612 591 CATTTTCTATACAACCCTGCTTGGAGCTTTCAAAGACATTGGACTTGCATAACTGTGCAGT

FaETR1 543 GTGGATGCC-CACCGTACTGCGTTGAGTTGCAGCTATCGTATACACTCCGTCAGCA-G
Fv21106 543 GTGGATGCC-CACCGTACTGCGTTGAGTTGCAGCTATCGTATACACTCCGTCAGCA-G
Atetr1-1 543 GTGGATGCC-TACTTGAAGTGGTGGTAGAGCTACAGCTTTCCTTATACACTTCGTCATCA-A
Fv11090 543 GTGGATGCCATGAGGAGC-GGATGACCTTCAACTTCTCATACTCTCAACTATGA-C
Fv32532 615 TTGGATGCC-TAATGAAATTAACAGAGATGATCCTEACCCATCAGTTGAAAGGGGAAGA
FaETR2 615 TTGGATGCC-TAATGAAATTAACAGAGATGATCCTEACCCATCAGTTGAAAGGGGAAGA
Fv16612 651 TTGGATGCC-TAATGAAACAGGACAGAGTTGAACCTEACTCATCAGTTGAAAGGG---A

FaETR1 601 AATCCTGTAGGACATACCGTACCCATACATCTTCCTGTGATCAATC-AAGTGTTTAGTAG
Fv21106 601 AATCCTGTAGGACATACCGTACCCATACATCTTCCTGTGATCAATC-AAGTGTTTAGTAG
Atetr1-1 601 CATCCCGTGGACTATACCGTTCCTATTCATTAACCGGTGATTAACC-AAGTGTTTGGTAC
Fv11090 601 CCCCAATTTGGCTCTACTGTGCCATTTAGCCTTCCTATAGTTAATG-AAGTTTTCACAG
Fv32532 674 ACTATTCTAATATCTACAACTTTTCTA----TACCAATTEGGCATCCAGATGTT--GTAC
FaETR2 674 ACTATTCTAATATCTACAACTTTTCTA----TACCAATTEGGCATCCAGATGTT--GTAC
Fv16612 707 GTTCTTCGAAATTTATAGTCAATCTA----TTCCAATGAATGACCCAAATGTG--TTGG

FaETR1 660 CAACCGTGGCTGTGAAGATAATCGCCGAATTCGCCGGTGGCAAGACTTAGGCC-ACTTGTG-
Fv21106 660 CAACCGTGGCTGTGAAGATAATCGCCGAATTCGCCGGTGGCAAGACTTAGGCC-ACTTGTG-
Atetr1-1 660 TACTAGGGCTGTAAAATAATCTCCTAATTCCTCCTGTGGCTAGTTGAGACCTGTTTCTG-
Fv11090 660 CTCTGAGCAATGCTATATACCTATACCTGCCCTTGGCCCGGATCAGACC-ACTTGTG-
Fv32532 728 TTATTAAAGGAGTG-ATGGGGTCAACAT--TCTTCGGCCAGATTTCAG--C-ACTTGTAT
FaETR2 728 TTATTAAAGGAGTG-ATGGGGTCAACAT--TCTTCGGCCAGATTTCAG--C-ACTTGTAT
Fv16612 761 AGATCAGAGACAGCA-ACAGACTAAGAA--CCTGAGGCCTGATTCTG--C-ACTTGGAG



Capítulo 2: Análisis transcriptómico para el estudio del etileno en plantas de fresa insensibles a esta hormona

FaETR1 718 --GGAA GCATA-TG-- CCTGGAGAG----- GTTGTTCAGTTCCGCTCCCTCTCC
Fv21106 718 --GGAA GCATA-TG-- CCTGGAGAG----- GTTGTTCAGTTCCGCTCCCTCTCC
Atetr1-1 719 --GGAA-TATA-TG-- CTAGGGGAG----- GTGCTCGCTGTGAGGGTCCGCTTC
Fv11090 718 --GGAAGTATA-TG-- CAACCTGAG----- ATTGTTCGCTCTGCGTGTACCGCTGT
Fv32532 782 GTGGAAGCACTCTGTGATTCTGGTGAGCCGGGACCAGTAGCTGCAATTCCGGATGCCAATGC
FaETR2 782 GTGGAAGCACTCTGTGATTCTGGTGAGCCGGGACCAGTAGCTGCAATTCCGGATGCCAATGC
Fv16612 815 CTCCAAGTTCTCTGTGTTCTAGTGAATGTGGTGCTGTAGCAGCAATCCGGATGCCAATGC

FaETR1 764 TGCACCTCTCCAACTTCCAAATCAATGATGGCCAGAGCTCTCAACTAAACGTTATGCGT
Fv21106 764 TGCACCTCTCCAACTTCCAAATCAATGATGGCCAGAGCTCTCAACTAAACGTTATGCGT
Atetr1-1 764 TCCACCTTCTAAATTTTCAATTAATGACTGGCCTGAGCTTTCAACAAAGAGATATGCTT
Fv11090 764 TGGATCATTCAAAATTTCCAAATGAACGACTGGCCTGA--TCTC-----TATGCCA
Fv32532 842 TTCCGGTTTCCAAATTTT-AAAGGGGGGACT--CCTGAGTTGATCCAGACTTGTATGCCA
FaETR2 842 TTCCGGTTTCCAAATTTT-AAAGGGGGGACT--CCTGAGTTGATCCAGACTTGTATGCCA
Fv16612 875 TTCCAAAATTCAAATTTT-AAAGGGGGTACA--CCACAGTTAGTTGATACTCCTTACGCTA

FaETR1 824 TCATGGTTTTGATGCTCCCTTGTGATAGTG-CAAGGCAATGGCATGTGCATGAGTTAGAG
Fv21106 824 TCATGGTTTTGATGCTCCCTTGTGACAGTG-CAAGGCAATGGCATGTGCATGAGTTAGAG
Atetr1-1 824 TCATGGTTTTGATGCTCCCTCAGATAGTG-CAAGGCAATGGCATGTGCATGAGTTGAA
Fv11090 812 TCATGGTTCTGATTCTACCAACAGATAGCA-CTAGAAATGGCCAGACCATGAACTTGAA
Fv32532 899 TATTGGTTCTGCTTCTACCTGTGTG-AGAGCCTAGATCTTGGAGCAGTCAGGAACTTGAG
FaETR2 899 TATTGGTTCTGCTTCTACCTGTGTG-AGAGCCTAGATCTTGGAGCAGTCAGGAACTTGAG
Fv16612 932 TATTGGTTTTGCTTCT-TCCGATGTCAGATTCTAGAGTTTGGAGCTATCATGAAATGAG

FaETR1 883 CTGTGTTGAGGTGGTTGCTGACCAGGTAGCAGTTGCTCTCTCACATGCTGCAATCTTAGAA
Fv21106 883 CTGTGTTGAGGTGGTTGCTGACCAGGTAGCAGTTGCTCTCTCACATGCTGCGATCTTAGAA
Atetr1-1 883 CTCGTTGAACTCGTCCGTCGATCAGGTGGCTGTGCTCTCTCACATGCTGCCATCTTAGAA
Fv11090 871 CTCGTTGAACTGTGTTGCAAGTCAGGTAGCTGTGCTCTTTCACATGCTGCTATTGTTGAA
Fv32532 958 ATAAATTAGGTGGTTGCTGACCAGGTGGCTGTGGCCTTATCCATGCTGCAATCCTTGAA
FaETR2 958 ATAAATTAGGTGGTTGCTGACCAGGTGGCTGTGGCCTTATCCATGCTGCAATCCTTGAA
Fv16612 991 ATAGTGAAGTGTGTGCTGACCAGGTGCAAGTGGCACTGTCCACGCTGCACTACTTGAA

FaETR1 943 GAGTCAACGAGGCCAGGGAATCTACTAATGGAGCAGAATATTGCACTCGATCTAGCTAGG
Fv21106 943 GAGTCAACGAGGCCAGGGAATCTACTAATGGAGCAGAATATTGCACTCGATCTGGCTAGG
Atetr1-1 943 GAGTCAATGCCAGGCTAGGGACCTTCTCATGGAGCAGAATGTTGCTCTTATGATCTAGCTAGA
Fv11090 931 GAGTCCATGCCAGCAGTGAACAGCTTGTGGAGCAGAATGTTGCTTTAGATTTGGCCCGG
Fv32532 1018 GAGTCCAACTTATTCGGGAACAATGGCTGAGCAAAACCGGGCCTTGCAACAGGCGAAA
FaETR2 1018 GAGTCCAACTTATTCGGGAACAATGGCTGAGCAAAACCGGGCCTTGCAACAGGCGAAA
Fv16612 1051 GAGTCTCAACTAATGAGAGAGAACTGAGAGAACAAATCGTGCCTACAGCAGGCTCAG

FaETR1 1003 AGGGAAGCAGAAACAGCCATTCGTGCTCGCAATGATTTCTTGGCAGTAATGAACCATGAA
Fv21106 1003 AGGGAAGCAGAAACAGCCATTCGTGCTCGCAACGATTTCTTGGCAGTAATGAACCATGAA
Atetr1-1 1003 CCAAGAGCAGAAACAGCAATCCGTGCCCGCAATGATTTCCCTAGCGGTATGAACCATGAA
Fv11090 991 AGAGAAGCAGAGCTGGCAATCCGTGCTCGCAATGATTTCCCTTGTCTTCTGCAACCATGAA
Fv32532 1078 ATGAATGCCATGATGGCAAGCCATGCAAGAACTCATTCCAAAAGGTGATGAGTGATGGG
FaETR2 1078 ATGAATGCCATGATGGCAAGCCATGCAAGAACTCATTCCAAAAGGTGATGAGTGATGGG
Fv16612 1111 AAGAATGCAATGATGGCCAGCCAGCAAGATACTCATTTCAGAAGGTGATGAGTAATGGA

FaETR1 1063 ATGAGAACTCCGATGCACGCAATTATTGCTCTTCTTTCATGCTGCAGGAAACTGAGCTG
Fv21106 1063 ATGAGAACTCCGATGCACGCAATTATTGCTCTTCTTTCATGCTGCAGGAAACTGAGCTG
Atetr1-1 1063 ATCGAACCCGATGCATGCAATATTATGCACTCTCTTCCCTTACTCCAAGAAACGGAATA
Fv11090 1051 ATGAGAACCCATGCAATGCAATATTGCAATTTGCTTTCATCTTCTTGAAGAACTGAACTA
Fv32532 1138 ATGAGAAGCCATGCAATTCATATTGGGCTGCTTTCCATGATGCAGGATGAGAGTTTG
FaETR2 1138 ATGAGAAGCCATGCAATTCATATTGGGCTGCTTTCCATGATGCAGGATGAGAGTTTG
Fv16612 1171 ATGAGAAGCCGATGCATTCATTTTGGGCTGCTGTCAACATTTCAA---GAGAGTATG

Capítulo 2: Análisis transcriptómico para el estudio del etileno en plantas de fresa insensibles a esta hormona

FaETR1 1123 ACACCGAGCAGCGTCTAATGGTTGAGACAATATTGAAGACCAGCAACCTTTTGGCTACT
 Fv21106 1123 ACACCGAGCAGCGTCTAATGGTTGAGACAATATTGAAGACCAGCAACCTTTTGGCTACT
 Atetr1-1 1123 ACCCTGAAACAAGACTGATGGTGGAAACAATACTTAAAGTAGTAACCTTTTGGCACT
 Fv11090 1111 ACACCGAGCCATAGCGTTATGATAGAACTCGGTACTAAAGAATAGCAACCTTTTGGAAACG
 Fv32532 1198 AATAATGATCAGCGACTTATGTTGATGCAATEGTTAAGGACAAGCAATGTCTTATCGACG
 FaETR2 1198 AATAATGATCAGCGACTTATGTTGATGCAATEGTTAAGGACAAGCAATGTCTTATCGACG
 Fv16612 1228 AGTTTGAACAAGGATTTATTGATAGACACTATGTTAAACTAGCTATGTTCTCTCCACT

FaETR1 1183 CTGATAAATGATGTACTAGACCTTTTCAAGACTTGAAGATGGCAGCCTTCAACTTGACATA
 Fv21106 1183 CTGATAAATGATGTACTAGACCTTTTCAAGACTTGAAGATGGCAGCCTTCAACTTGACATA
 Atetr1-1 1183 TTGATTAATGATGTCTTAGATCTTTTCAAGCTTGAAGATGGAAGTCTTCAACTTGAACCTT
 Fv11090 1171 CTATATTAATGATGTCTTAGATCTTTTCTAGACTTGAAGATGGCAGCCTTAGACTTGGACATT
 Fv32532 1258 TTGATAAATGATGCTATGATAAATCCAGCCAAGGATAGTGGAAAGATTTTCTTTGGAGATG
 FaETR2 1258 TTGATAAATGATGCTATGATAAATCCAGCCAAGGATAGTGGAAAGATTTTCTTTGGAGATG
 Fv16612 1288 TTGATAAATGATGTCTAGAGATGTCAGCAAAAGATATGGAAGGTTTCCCTCTGGAGATG

FaETR1 1243 GCAACTTTTAACTTCCATCTCTATTTCATAGAGGTTTCATAAATTTAGTTAA--GCCTGTTG
 Fv21106 1243 GCAACTTTTAACTTCCATCTCTATTTCATAGAGGTTTCATAAATTTAGTTAA--GCCTGTTG
 Atetr1-1 1243 GGGACATTTCAATCTTTCATACATTTATTTAGAGAGGTCCTCRACTCTGATAAA--GCCTATAG
 Fv11090 1231 GGAAGTTTAACTTCCATGGACTTTTTCAGAGAGGCAATCGATCTGATAAA--GCCTATTG
 Fv32532 1318 AGCCCTTTCCGTTTACAACCAATGATAAAGAAAGCAGCTTCCCTTGCCAAATGCTTGT-G
 FaETR2 1318 AGCCCTTTCCGTTTACAACCAATGATAAAGAAAGCAGCTTCCCTTGCCAAATGCTTGT-G
 Fv16612 1348 AGCCCTTTTCAACTTCACTCCATGATCAAAGAAAGCTTCTTCCCTCGCCAAGTCTTGT-C

FaETR1 1301 CATCTGTCAAAGCTTGTCACTTACACTAAATTTAGC-AGCAGATTTGCCAGTTTATCGG
 Fv21106 1301 CATCTGTCAAAGCTTGTCACTTACACTAAATTTAGC-AGCAGATTTGCCAGTTTATCGG
 Atetr1-1 1301 CAGTTGTTAGAAATTTACCTTACACTAAATCTTGC-ACCAGATTTGCCAGAATTTGTT
 Fv11090 1289 CTACTGTGAAGAACTTTCCTGAGCTTTGATTCTGCG-CCCGEATGTGCCTGTATGTGCT
 Fv32532 1377 TGTGTATAGGGGCTTTGGTTTTGCAATTGAGCTTGAACAAGTCCAT-AGC-TGATCATGTA
 FaETR2 1377 TGTGTATAGGGGCTTTGGTTTTGCAATTGAGCTTGAACAAGTCCAT-AGC-TGATCATGTA
 Fv16612 1407 TGTGTATAAAGCTTTGGTTTGAAGTTGATGTTCA-GAGCTCAT-TGCCTAATCAGGTG

FaETR1 1360 ATTGGTGATGAAAGCCGCCCTTCTACAAATTAATCTAAATGTTGTTGGCAATGCTGTCAAG
 Fv21106 1360 ATTGGTGATGAAAGCCGCCCTTCTACAAATTAATCTAAATGTTGTTGGCAATGCTGTCAAG
 Atetr1-1 1360 GTTGGGATGAGAAACCGGCTTATGCAATATAATTAATAATAGTTGGTAATGCTGTGAAA
 Fv11090 1348 GTTGGGATGAGAAACCGGCTTATGCAACTATCTTAAATGTTGCTGGTAATGCTGTCAAA
 Fv32532 1435 ATTGGAGATGAAAGAGGGCTTTTTCAGGTEATTTTTCATATGTTGGTAGC-CTGTTGAA
 FaETR2 1435 ATTGGAGATGAAAGAGGGCTTTTTCAGGTEATTTTTCATATGTTGGTAGC-CTGTTGAA
 Fv16612 1465 ATGGGAGAGAAAGAGGGCTTTCCAAGTAATCTTTCATATGTTGCATAT-CTTTTGA

FaETR1 1420 T--TTTCAAAGAGGGAGCCTTCTCAATTAATGCTTTTGTTCGAAATCAGAATCTCTAA
 Fv21106 1420 T--TTTCAAAGAGGGAGCCTTCTCAATTAATGCTTTTGTTCGAAATCAGAATCTCTAA
 Atetr1-1 1420 T--TCTCCAAACAAGTAGTATCTCCCTAACCGCTCTTGTCCACCAAGTCAGACACACGA-
 Fv11090 1408 T--TTCAAAGGATGGTTATGTTTCACTTATAGCATCTATTGCAAGACCAGAATCTTCAA
 Fv32532 1494 TGGAAACCAAGGCCGAGGCTTGGTCTGATTTCCGGCTTTCTTTCAGAGAATGGAAGTCAGGG
 FaETR2 1494 TGGAAACCAAGGCCGAGGCTTGGTCTGATTTCCGGCTTTCTTTCAGAGAATGGAAGTCAGGG
 Fv16612 1524 CACCTATAAGGAGGAGGACTGTCATCTTTCGGCTATTTCTAGAGAGTGGTTCTGAGAC

FaETR1 1478 GAGATTTCCGTCTGCTG--ACTTTTTTTCCTGTGCAAA-----GTGATAATCACT
 Fv21106 1478 GAGATTTCCGTCTGCTG--ACTTTTTTTCCTGTGCAAA-----GTGATAATCACT
 Atetr1-1 1477 -----CCTGCTG--ACTTTTTTTCCTGTGCAAA-----CTGAGATCATT
 Fv11090 1466 GAGATTTCCGTCTGCTG--AAATTTTATCCAGCCGCAA-----GTGACGGCCATT
 Fv32532 1554 GAGAAATGATCAAGATG-GCTGCTT-TGGAGA-CAGA-ACTC---TGATAGTGGTGATG
 FaETR2 1554 GAGAAATGATCAAGATG-GCTGCTT-TGGAGA-CAGA-ACTCATCTGATAGTGGTGATG
 Fv16612 1584 CCCGATGAT--AAATTCGAACAGATGTCGAGAACAGGTACAC--CAGATGA--GT-ACG



Capítulo 2: Análisis transcriptómico para el estudio del etileno en plantas de fresa insensibles a esta hormona

<i>FaETR1</i>	1526	TTTATCTGCGTGTACAGG-----TAAAAGATT
<i>Fv21106</i>	1526	TTTATCTGCGTGTACAGG-----TAAAAGATT
<i>Atetr1-1</i>	1514	TCYACTTGAGAGTGAGG-----TAAAAGACT
<i>Fv11090</i>	1514	TTTACTTTCGAGTTCAGGGTGTAGACTTTTTAGCTCGACAATCATGTACTGTCAAAGATT
<i>Fv32532</i>	1607	TATATATTAGATTTGAGA-----TTGGGAT
<i>FaETR2</i>	1610	TATATATTAGATTTGAGA-----TTGGGAT
<i>Fv16612</i>	1637	TATCTGTGAGCTTCGAAT-----TGGAGAT
<i>FaETR1</i>	1553	CAGGATCTGGAATCAAATCCCCAGGATCTTCCBAAGTTATTCACCAAATTTGCACA-----
<i>Fv21106</i>	1553	CAGGATCTGGAATCAAATCCCCAGGATCTTCCBAAGTTATTCACCAAATTTGCACA-----
<i>Atetr1-1</i>	1541	CTGGACAGGAATAAAATCCCTCAAGACATTCCAAAGATTTTCACTAAATTTGCTCA-----
<i>Fv11090</i>	1574	CTGGCAGTGGTATTTCTTCCCAAGATATTCCTCGTATTTTTCACCAAGTTTACTCAGCCCA
<i>Fv32532</i>	1632	-AAGCAACGGTCTGTTCTCAATCAGATATGACAAGTCCAATTATGCAGCTTGTGGT----
<i>FaETR2</i>	1635	-AAGCAATGGTCTGTTCTCAATCAGATATGACAAGTCCAATTATGCAGCTTGTGGT----
<i>Fv16612</i>	1662	-TAATGACGGAACTTCTCATTTCCAGTGTGAGTATCATCATGATTGATTACGGTGGT----
<i>FaETR1</i>	1608	-AAATCAGTCATTAGCTACTCGCAATTTCTGGTGGAAAGTGGACTTG-CTCTTGCAATTTGT
<i>Fv21106</i>	1608	-AAATCAGTCAGTAGCTACTCGCAATTTCTGGTGGAAAGTGGACTTG-CTCTTGCAATTTGT
<i>Atetr1-1</i>	1596	-AACACAACTCTTAGCCAGCAGAACTCTGGGTGGTACTGGCTTG-CCCTCGCCATCTCC
<i>Fv11090</i>	1634	GAAATGGATC--CAAT--CGAGTAAAT--GATGGTGCAGGACTTG-CACTTGCCATTTGC
<i>Fv32532</i>	1687	-ACGAGATACACAGTGAAGGA-----GTTGAGGAGAACTTGAGCTTCAACATTTGC
<i>FaETR2</i>	1690	-ACGAGATACACAGTGAAGGA-----GTTGAGGAGAACTTGAGCTTCAACATTTGC
<i>Fv16612</i>	1717	-ACGAGATACACAGCAGCTGAA-----ATAAAGAAAGGCCCTGAGCTTCAACATTTGC
<i>FaETR1</i>	1666	AAGAGATTTGTAAATCTCATGGAGGGCCATATTTGGAT-----TGAAAGTGATGGTCTA
<i>Fv21106</i>	1666	AAGAGATTTGTAAATCTCATGGAGGGCCATATTTGGAT-----TGAAAGTGATGGTCTG
<i>Atetr1-1</i>	1654	AAGAGGTTTGTGAATCTGATGGAGGGTAAACATTTGGAT-----TGAGAGCGATGGTCTT
<i>Fv11090</i>	1687	AAAAGGTTTGTGAATACCATGGAGGTCATATTTGGAT-----CGAGAGTGAAGGCAT
<i>Fv32532</i>	1738	AAAAGGCTAGTGCAGTTGATGCAAGGAACATATGGCCAATTCCTAACCCCTCAAGGATTT
<i>FaETR2</i>	1741	AAAAGGCTAGTGCAGTTGATGCAAGGAACATATGGCCAATTCCTAACCCCTCAAGGATTT
<i>Fv16612</i>	1768	AAAAAGATTGTCCAGATGATGCAAGGCAATATCTGGATA-TCCATGAATCCGATCAATCT
<i>FaETR1</i>	1720	G--CCAAGGATGCACACTACTTCTTC-ATTGTGAAACTCGGCTATCCGGAGCGATCAAAT
<i>Fv21106</i>	1720	G--CCAAGGATGCACACTTCTACTTCTTC-ATTGTGAAACTCGGCTATCCGGAGCGATCAAAT
<i>Atetr1-1</i>	1708	G--CAAAGGATGCACGCTACTTCTTT-GATGTTAAACTTGGATCTCAGAACGTTCAAAC
<i>Fv11090</i>	1741	G--CAAGGGA-----ACTCTT-GTTGT-----
<i>Fv32532</i>	1798	C-CTCAAAGCATG-CCACTTCTTCTCCGTTTCAAACCTCGACCATCCATTGCAAT-AGCC
<i>FaETR2</i>	1801	C-CTCAAAGCATG-CCACTTCTTCTCCGTTTCAAACCTCGACCATCCATTGCAAT-AGCC
<i>Fv16612</i>	1827	CGCAAAAGCATG-ACACTTCTTCTCAGTTTCAAATCCTTCTTTAGGGAG-AG--
<i>FaETR1</i>	1777	CAGTCTAACTGCCTTTTTTTCCTTAGATGCACACAACACTCATCTTC--AAACAAACTTTC
<i>Fv21106</i>	1777	CAGTCTAACTGCCTTTTTTTCCTTAGATGCACACAACACTCATCTTC--AAACAAACTTTC
<i>Atetr1-1</i>	1765	CAGTCTAAACAGTCGGGCATACCGAAGTTCAGCCATTCCCGAC--ATTCAAATTTCA
<i>Fv11090</i>	1761	--ATTTA-----TCGT-----CAAA-----
<i>Fv32532</i>	1855	ATCTCTGAACCTGGAGGATCATCAGAG-----CACTCCGATTTCCAATTCTATATTCA
<i>FaETR2</i>	1858	ATCTCTGAACCTGGAGGATCATCAGAG-----CACTCCGATTTCCAATTCTATATTCA
<i>Fv16612</i>	1883	-----GAAATCCATTGGAG-----CAACCAAATTTCCAATCAGACTTCA
<i>FaETR1</i>	1835	CAGGCTTGAAAGTTCTTGTTCATGGATGATAATGGAGTCCAGCAGATCAGTTACAAAGGGAC
<i>Fv21106</i>	1835	CAGGCTTGAAAGTTCTTGTTCATGGATGATAATGGAGTCCAGCAGATCAGTTACAAAGGGAC
<i>Atetr1-1</i>	1823	CTGGACTTAAAGTTCCTTGTTCATGGATGAGAAACGGGGTAAAGTACAATGGTGACGAAGGGAC
<i>Fv11090</i>	1774	-----CTCCGATATGTGACACTTG--CAGTACAACAATAGC-----
<i>Fv32532</i>	1907	GAGCCTTGCAAGTTCTTGTACTGATGAAGATGATGTGAATAGGCTTGTGACTCGGAAGC
<i>FaETR2</i>	1910	GAGCCTTGCAAGTTCTTGTACTGATGAAGATGATGTGAATAGGCTTGTGACTCGGAAGC
<i>Fv16612</i>	1922	CAGGACTCCGGTTCTAGTACCGGACGATGATAATGTRAACAGCACCGTGACCACAAAGC

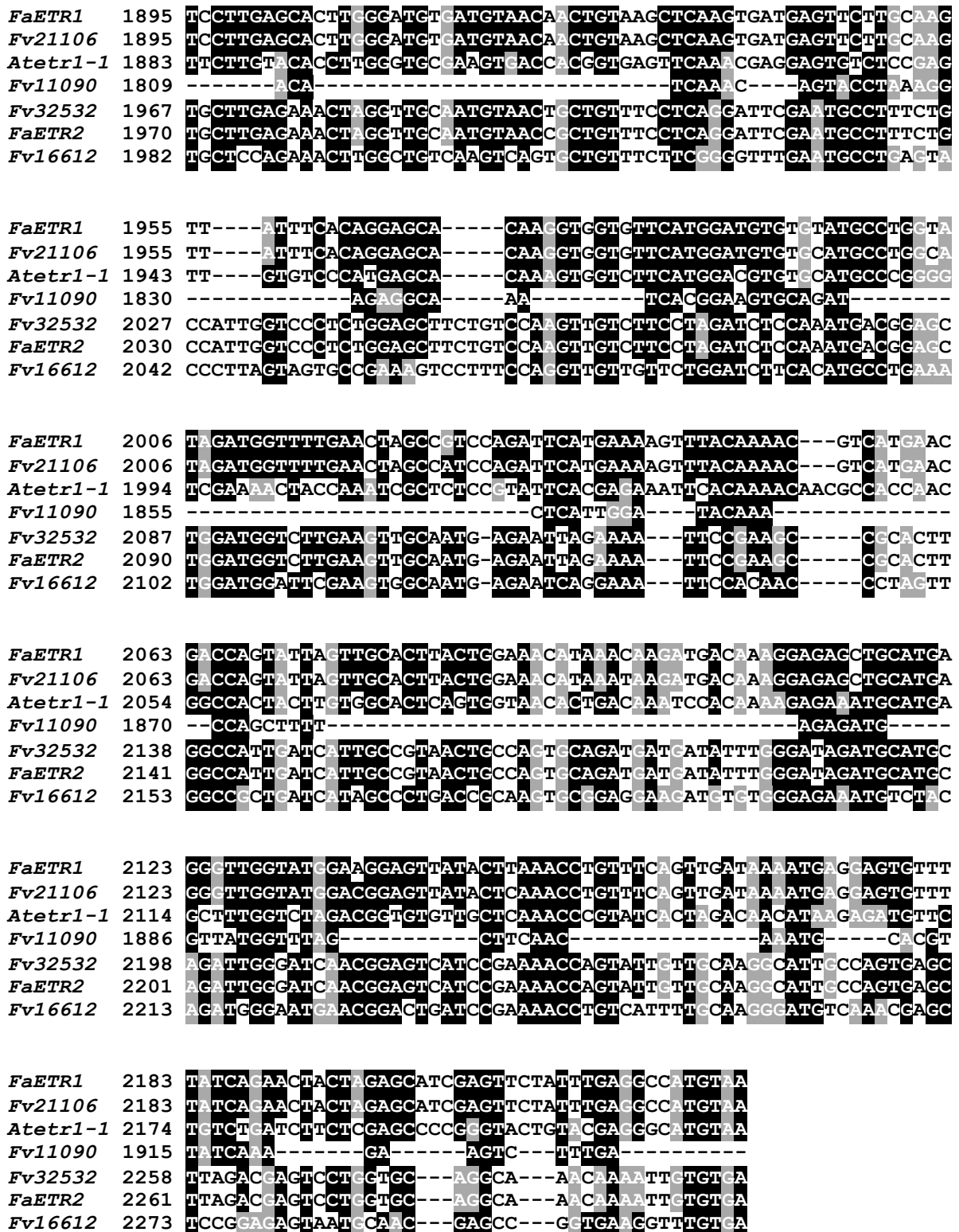


Figura 4. Alineamiento de nucleótidos de genes homólogos a *Atetr1-1* en *F. vesca* y *F. x ananassa*. Las letras blancas con fondo negro representan nucleótidos conservados en al menos tres de los genes usados en el alineamiento. Número de acceso de los genes en <http://www.strawberrygenome.org>: *Fv21106* (gene 21106), *Fv11090* (gene 11090), *Fv32532* (gene 32532), *Fv16612* (gene 16612); en <https://www.arabidopsis.org>: *Atetr1-1* (AT1G66340.1) y en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>: los genes *FaETR1* (AJ297511) y *FaETR2* (AJ297513.1). La letra roja G en la posición 194, indica el sitio donde se produce la mutación en *Atetr1-1*, cambiando ésta por una A .El alineamiento se llevó a cabo empleando el programa ClustalW.

Tabla 1. Valores de RPKM de los genes homólogos a *Atetr1-1* en el RNA-seq. El ID es el identificador del gen en el RNA-seq. El total es la suma de todos los RPKM de los genes *Fa21106*, *Fa11090*, *Fa32532* y *Fa16612*.

ID en <i>F. vesca</i>	Descripción	RPKM de Control	RPKM de <i>etr1-1</i> L10	RPKM de <i>etr1-1</i> L12
gene21106-v1.0-hybrid	Ethylene receptor	7.29	7.29	7.96
gene11090-v1.0-hybrid	Ethylene receptor (similar to)	13.04	13.29	15.88
gene32532-v1.0-hybrid	Ethylene receptor 2 (AtETR2) (putative)	4.48	3.35	4.52
gene16612-v1.0-hybrid	Protein EIN4 (AtEIN4) (putative)	3.71	3.13	5.20
Total		28.52	27.06	33.56

Análisis de genes seleccionados con diferencias significativas para ambas líneas mediante el programa Mapman

Para el análisis global se amplió el número inicial de 120 genes que mostraban cambios significativos en relación al control en las dos líneas. Así, se decidió usar los resultados de la línea *etr1-1* L12 y *etr1-1* L10 que fueran significativos al menos en una de ellas, mientras que en la otra línea presentaban el mismo comportamiento, ya sea aumentando o disminuyendo su expresión respecto al control. Se seleccionaron un total de 382 genes que cumplieran este requerimiento (Tabla 2 de Anexos). Debido a que la línea *etr1-1* L12 mostró mayor número de genes significativos dentro de los genes seleccionados (382), se decidió emplear los valores de expresión de esta línea para los estudios de los genes seleccionados. Para este estudio, se empleó la herramienta Mapman, que da una visualización mediante diagramas de los diferentes genes en relación a las rutas metabólicas (Thimm *et al.*, 2004).

Se introdujeron en el programa de Mapman los 382 genes seleccionados utilizando los valores de expresión de la línea *etr1-1* L12. Los genes se importaron al programa en un documento con parámetros específicos tales como el identificador del

gen y el valor experimental de expresión (el cambio de la expresión entre la línea transgénica *etr1-1* L12 y el control dado en escala de Log_2). El programa organizó automáticamente los datos en categorías funcionales llamados Bins y subBins (sub categorías), los cuales están en la Tabla 2 de Anexos. En esta tabla se muestran las categorías de BinCode, BinName, ID (identificador del gen), la función del gen basado en el genoma de *F. vesca*, los valores de RPKM (tanto del control, como de *etr1-1* L12 y *etr1-1* L10) y los valores de expresión en Log_2 . Con estos Bins tuvimos la opción de visualizar los diferentes diagramas pertenecientes a mapas metabólicos.

El primer análisis con la denominación de *metabolism overview* de los genes seleccionados nos dió una idea general de los cambios en el metabolismo. En esta categoría se visualizaron 47 genes (Figura 5). Esta visualización divide a los genes en varios grupos. En la categoría de pared celular se observaron 7 genes (en la visualización del Mapman cada cuadro pertenece a un gen, Figura 5) que mostraron sobreexpresión (color rojo) y uno, cuya expresión disminuyó (color verde). En el metabolismo menor de carbohidratos sólo un gen está sobreexpresado.

También se observaron cambios en la categoría de los lípidos, donde 2 genes mostraron sobreexpresión y un gen silenciamiento. Los genes involucrados en el metabolismo de la sacarosa, almidón, glutatión, ácido ascórbico (vitamina C) y reacciones de luz, mostraron 2 genes con cambios en su sobreexpresión y uno un cambio de silenciamiento.

En el metabolismo secundario, se presentaron cambios en la ruta de las ceras, flavonoides, fenilpropanoides y compuestos fenólicos, con 3 genes que mostraron sobreexpresión, y 2 genes que disminuían su expresión en flavonoides y fenilpropanoides. En la ruta de síntesis de aminoácidos, se mostró un gen silenciado en el grupo de glutamina, prolina, asparagina e hidroxiprolina. En la ruta de degradación de los aminoácidos hay un gen silenciado que pertenece al grupo de asparagina, treonina, metionina y lisina, y otro gen ligeramente sobreexpresado en el grupo de fenilalanina, tirosina y triptófano (Figura 5).

Así pues, genes correspondientes a las principales rutas del metabolismo primario fueron afectados en su expresión a nivel transcripcional en las líneas transgénicas *etr1-1*. En principio sería de esperar, pues se trata de una hormona que interviene de forma importante en diversos procesos que ocurren en la maduración de los frutos.

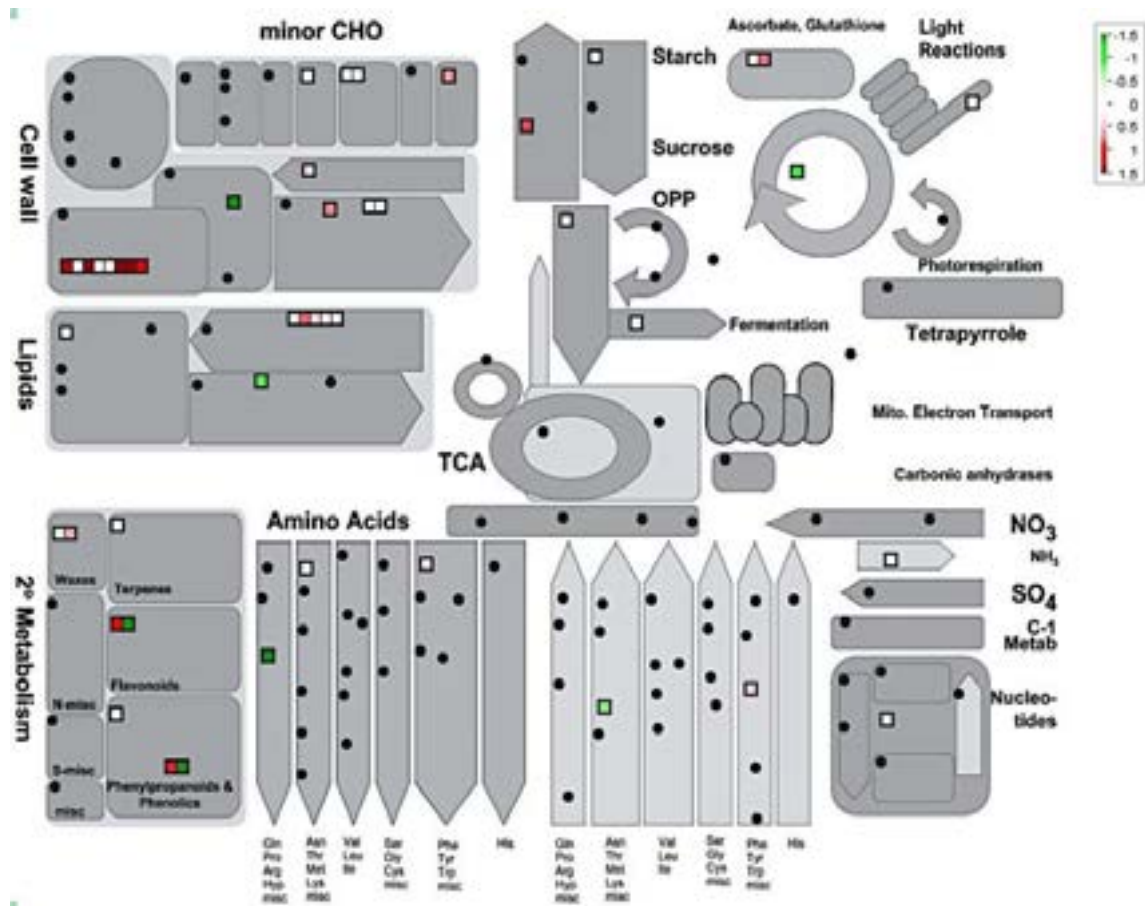


Figura 5. Descripción general del metabolismo (*metabolism overview*) de los 382 genes seleccionados mostrando a la línea *etr1-1* L12 mediante el software Mapman (<http://mapman.gabipd.org/web/guest/mapman>). Los genes se representan como cuadros individuales y están asociados a la diferencia en los niveles de expresión. En verde y rojo están representados los genes con una disminución o aumento en la expresión respecto al control empleado una escala de -1.5 a +1.5

El diagrama *overview* del programa Mapman (Figura 6) nos mostró los 382 genes agrupados en 35 categorías funcionales (Bins). Las categorías que presentaron un mayor grupo de genes diferencialmente expresados fueron: grupo 10 (pared celular), 11 (metabolismo de lípidos), 13 (metabolismo de aminoácidos), 16 (metabolismo secundario), 17 (metabolismo hormonal), 20 (estrés), 26 (genes con función miscelánea), 27 (RNA), 28 (DNA), 29 (proteínas), 30 (señalización), 33 (desarrollo), 34 (transporte). El grupo 35 (no asignados) fueron genes que no lograron agruparse en ninguna categoría funcional (Figura 6).

Para profundizar más en estos grupos, se decidió estudiar las categorías funcionales que mostraron mayor diferencia entre los 382 genes de la línea *etr1-1* L12 en las diferentes rutas metabólicas que agrupa y visualiza el programa de Mapman.

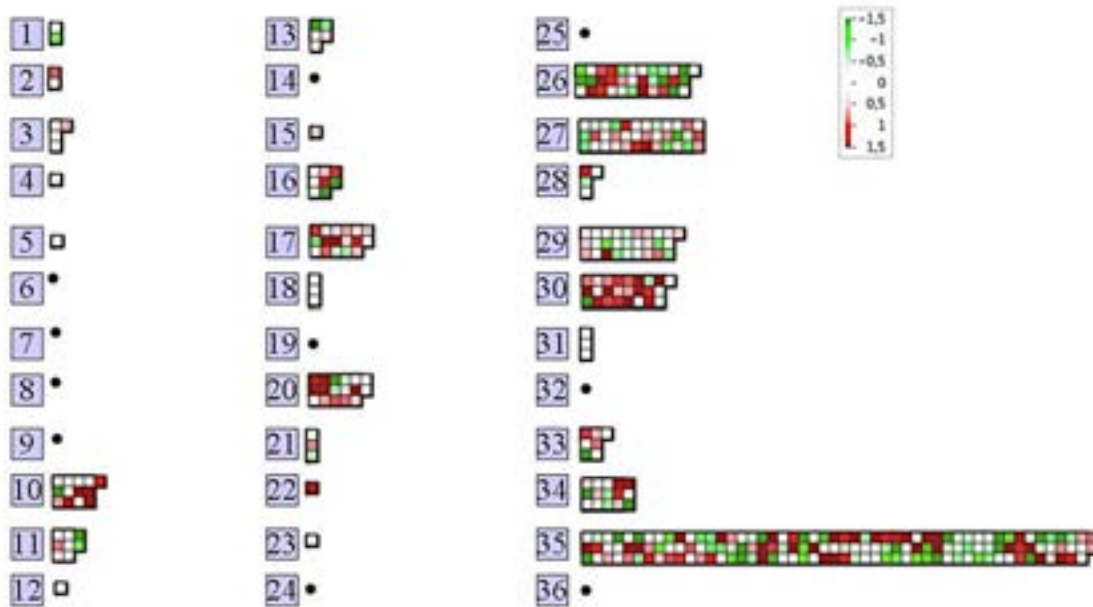


Figura 6. Distribución funcional por grupos en Mapman (overview) de la línea *etr1-1* L12. Los grupos funcionales se dividen en: 1.-Fostosíntesis (PS), 2.-Metabolismo mayor de carbohidratos, 3.-Metabolismo menor de carbohidratos, 4.-Glicólisis, 5.-Fermentación, 6.-Gluconogénesis/ ciclo del glioxilato, 7.-Vía de la pentosa fosfato oxidativa (OPP), 8.-Ciclo del ácido tricarbóxico, 9.-Transporte electrónico mitocondrial, 10.-Pared celular, 11.-Metabolismo de lípidos, 12.-Metabolismo del nitrógeno, 13.-Metabolismo de aminoácidos, 14.-Asimilación del azufre, 15.-Manipulación del metal, 16.-Metabolismo secundario, 17.-Metabolismo hormonal, 18.-Cofactores y metabolismo de vitaminas, 19.-Síntesis de tetrapirrol, 20.-Estrés, 21.- Oxido-reducción, 22.-Metabolismo de poliaminas, 23.-Metabolismo de nucleótidos, 24.-Degradación de xenobióticos, 25.-Metabolismo del carbono 26.-Genes misceláneos, 27.-RNA, 28.-DNA, 29.-Proteínas, 30.- Señalización, 31.-Función celular, 32.-Micro RNAs, 33.-Desarrollo, 34.-Transporte y 35.-No asignados. Los genes están representados por cuadros individuales asociados a los niveles de expresión entre el control y la línea transgénica. En verde y rojo están representados los genes con una disminución o aumento respectivamente en comparación con el control, se emplea una escala de -1.5 a +1.5

El mapa de regulación (*regulation overview*) en Mapman (Figura 7) se visualizaron 91 genes diferenciados. En conjunto, los grupos de factores de transcripción, modificación y degradación de proteínas, mostraron 41 % de genes sobreexpresados, mientras que el 36 % están silenciados. En el grupo de hormonas, donde se encuentran auxina, ácido abscísico, brasinoesteroides, etileno y citoquininas, mostraron un 64 % de genes sobreexpresados, mientras que el 29 % de los genes se encontraron silenciados. Entre los grupos: regulación del calcio, receptores quininas, proteínas G, carbono y nutrientes y regulación redox, mostraron un 68 % de genes con sobreexpresión, y el 25 % de silenciamiento. De los de los 91 genes reguladores, el 54 % mostraron una sobreexpresión media y alta, mientras que el 33 % mostró una disminución de la expresión (Figura 7).

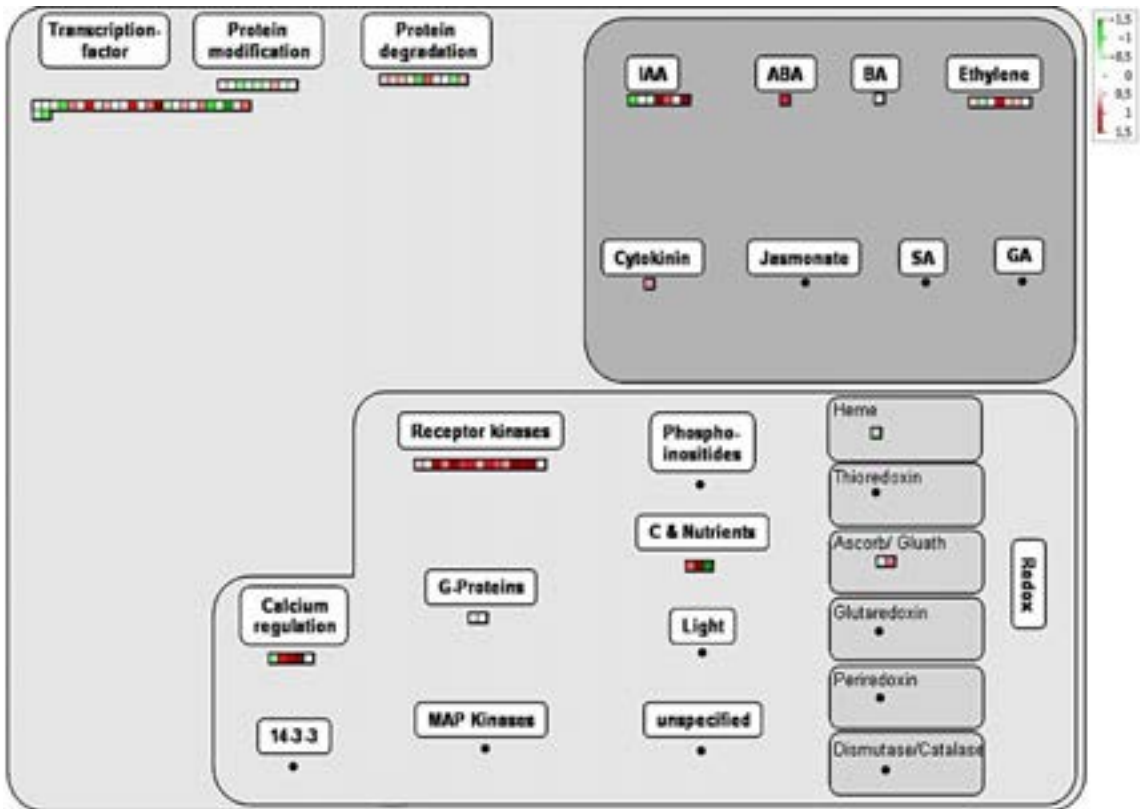


Figura 7. Visión general de la regulación de los genes (*regulation overview*) en Mapman de la línea *etr1-1* L12. Los genes individuales se representan por pequeños cuadrados, expresados diferencialmente. En verde y rojo están representados los genes con una disminución o aumento respectivamente en comparación al control en valores de Log_2 , utilizando la escala de -1.5 a +1.5.

En el diagrama de la respuesta celular (*cellular response*), se visualizan 28 genes divididos en diferentes grupos. Los más representativos y que mostraron los mayores cambios tanto de sobreexpresión como de silenciamiento fueron: estrés biótico (que presentó 6 genes sobreexpresados y 3 genes silenciados), estrés abiótico (de los que resaltaron la sobreexpresión de 4 genes con respuesta al calor), regulación redox (donde un gen fue silenciado, y otro gen sobreexpresado) y genes involucrados en el desarrollo, que en general fueron ligeramente sobreexpresados, resultando un gen silenciado (Figura 8).

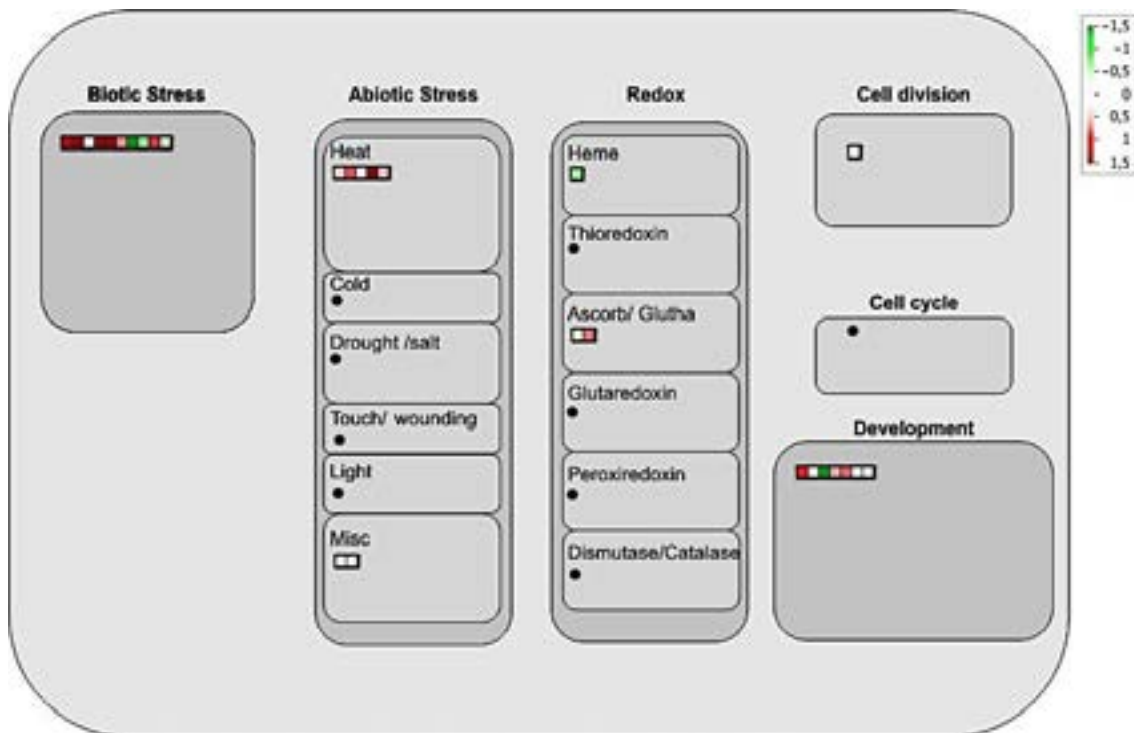


Figura 8. Visualización del Mapman en la respuesta celular (*cellular response*) de la línea *etr1-1* L12. Los genes se representan individualmente por pequeños cuadrados expresados diferencialmente. En verde y rojo están representados los genes con una disminución o aumento respectivamente con respecto al control en valores de Log₂, utilizando al escala de -1.5 a +1.5

La Figura 9 nos mostró el mapa del estrés biótico (*biotic stress*) con 103 genes involucrados en las diferentes funciones. Dentro de estas funciones se encontraron genes relacionados con la acción de las hormonas. Así, se visualizaron 4 genes sobreexpresados y 2 silenciados con respuesta, regulación o activación por auxinas; en la señalización de brasinoesteroides sólo un gen mostró silenciamiento; para la hormona ácido abscísico, un gen involucrado en el metabolismo de esta hormona fue sobreexpresado; mientras que los genes involucrados con la síntesis, degradación y señalización del etileno mostraron 6 genes sobreexpresados y 2 silenciados (Figura 9). En la categoría de pared celular, hay 7 genes involucrados en modificación de la pared celular.

Los genes involucrados en la proteólisis, presentaron 6 genes sobreexpresados y 3 genes silenciados (uno ligeramente) (Figura 9). En los genes relacionados con patogénesis y proteínas PR, mostraron 3 genes silenciados y 1 gen sobreexpresado. Entre los genes involucrados en el mantenimiento del estado redox, en donde 5 genes se silenciaron y 4 genes se sobreexpresaron (Figura 9).

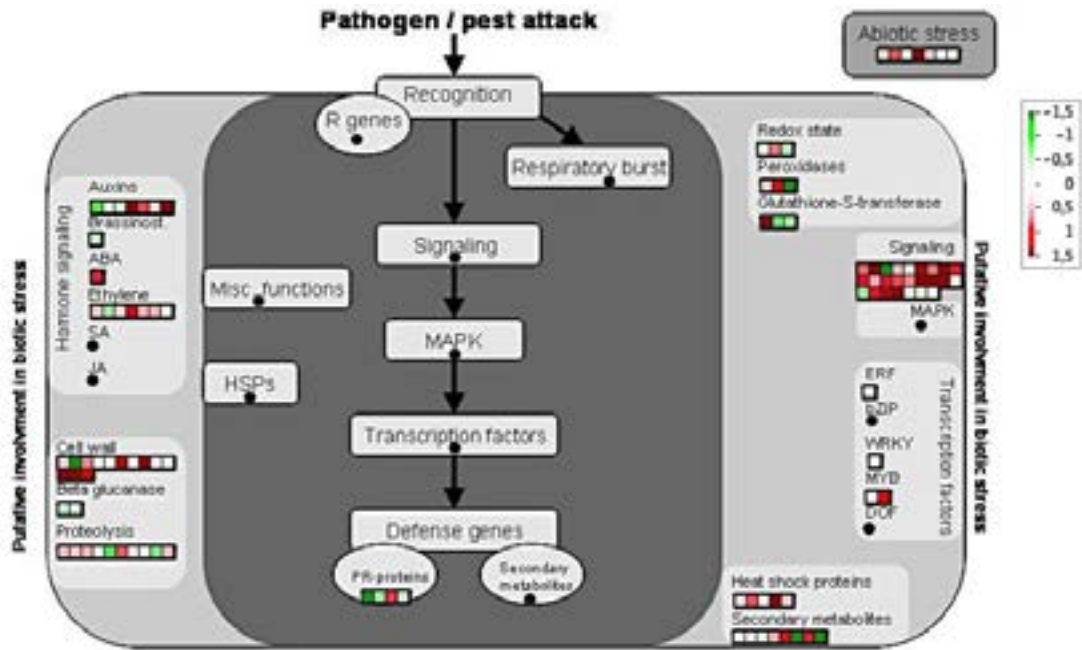


Figura 9. Genes involucrados en el estrés biótico (*biotic stress*) de la línea *etr1-1* L12 visualizados en Mapman. Los genes se representan individualmente por pequeños cuadrados expresados diferencialmente. En verde y rojo están representados los genes con una disminución o aumento respectivamente en comparación con el control en valores de Log_2 , utilizando la escala de -1.5 a +1.5

Los genes con respuesta al estrés biótico que están involucrados en la señalización, tanto del tipo receptores quinasa, señalización por calcio, proteínas G y en la señalización de nutrientes y azúcar, presentaron 17 genes con un efecto de sobreexpresión y 7 genes, mostraron silenciamiento (2 de ellos con muy poca diferencia en su represión) (Figura 9). Un gen involucrado en la regulación de la transcripción en el RNA, con dominio MYB, presentó sobreexpresión. Los genes que codifican proteínas involucradas en el estrés biótico por choque térmico, presentaron 4 genes sobreexpresados. Los genes involucrados en el metabolismo secundario como flavonoides, fenoles simples y ceras se encontraron 4 genes sobreexpresados y 3 genes ligeramente silenciados. Por último, de los genes relacionados con estrés abiótico, se encontraron 4 de ellos con una mayor expresión respecto al control (Figura 9).

En el diagrama de las principales categorías de las enzimas (*large enzyme families*), se mostraron 30 genes agrupados en diferentes familias (Figura 10). Esta visualización, permite agrupar los genes en varias familias, como en las enzimas tipo citocromo P450, que presentaron 2 genes sobreexpresados y 2 con silenciamiento. En las enzimas de la familia de las glucosidasas solo hay un gen con sobreexpresión, en

las enzimas peroxidadas se mostraron 2 genes sobreexpresados y uno silenciado, mientras que las oxidasas mostraron un gen sobreexpresado y uno silenciado. La familia de las UDP glicosiltransferasas que mostraron 7 genes sobreexpresados y 4 silenciados. Los genes que codifican a las proteínas glutatión-s-transferasas, presentaron un gen sobreexpresado y 2 silenciados. De la familia beta 1,3 glucano hidrolasas se mostró un gen ligeramente silenciado (Figura 10).



Figura 10. Visualización en Mapman de las familias de enzimas (*large enzyme families*) de la línea *etr1-1* 12. Los genes se representan individualmente por pequeños cuadrados expresados diferencialmente. En verde y rojo están representados los genes con una disminución o aumento respectivamente en comparación al control en valores de Log₂, utilizando la escala de -1.5 a +1.5.

En la Figura 11, se visualizaron 17 genes que mostraron cambios tanto de aumento como disminución en sus valores de expresión comparados con el control en los genes receptores de quinasas.

Los receptores quinasa con repeticiones ricas en leucina (LRR), presentaron 9 genes con una mayor expresión y uno de ellos mostró una expresión ligeramente menor respecto al control. En la categoría, DUF26 (*Domain of Unknown Function 26*) 2 genes mostraron sobreexpresión. Los receptores quinasa de glicoproteína con S-locus, mostraron 2 genes sobreexpresados (Figura 11).

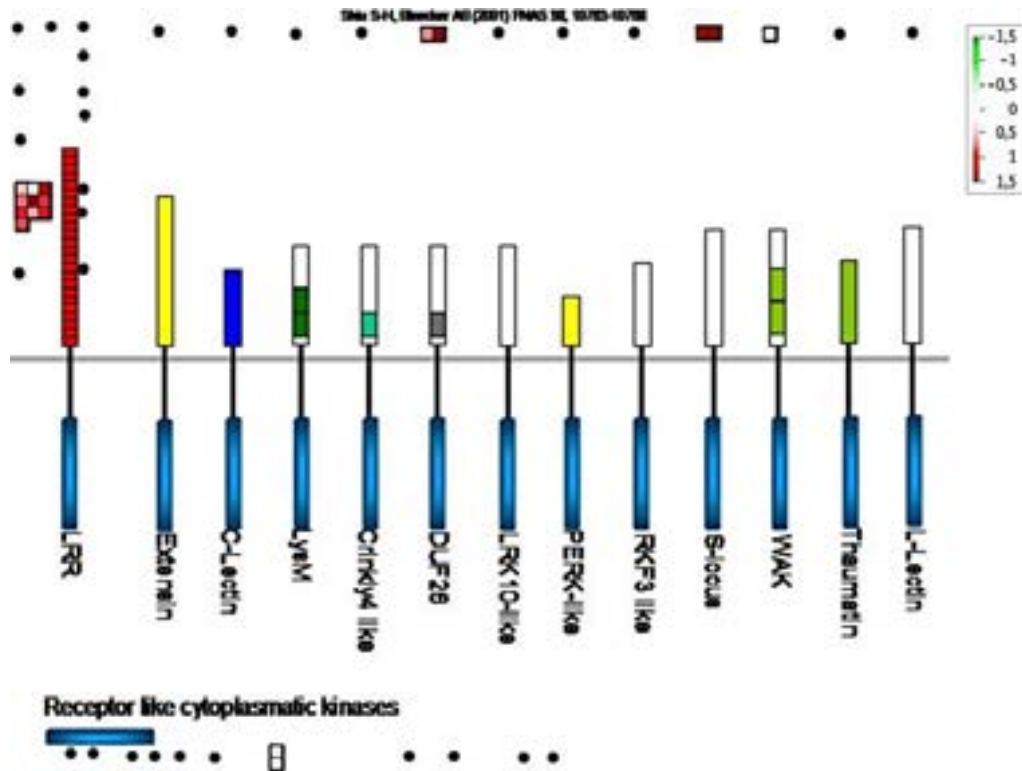


Figura 11. Genes receptores de quinazas (*receptor like kinases*) de la línea *etr1-1* L12 visualizado en Mapman. Los genes se representan por pequeños cuadrados expresados diferencialmente. En verde y rojo están representados los genes con una disminución o aumento respectivamente en comparación al control en valores de Log₂, utilizando la escala de -1.5 a +1.5.

En la visualización del diagrama de transcripción, Mapman nos mostró 29 genes relacionados (Figura 12), que se dividieron en varias categorías, de acuerdo a su función. Las categorías que mostraron cambios fueron muy diversas, destacándose por su posible relación directa con etileno. La familia de factores de transcripción del tipo AP2/EREBP (APETALA2/Elemento con respuesta a etileno y proteína de unión) que tiene diferentes funciones en los procesos de desarrollo, el cual mostró un gen con ligero silenciamiento. Cabe destacar que los genes correspondientes a factores de transcripción del tipo bHLH (familia *Basic Helix-Loop-Helix*) con funciones regulatorias en diversos procesos, mostraron 2 genes que fueron sobreexpresados y 2 silenciados.

Los factores de transcripción con motivo CCAAT que están involucrados en los aspectos del crecimiento y desarrollo, mostraron un gen silenciado. Un factor de transcripción con dominio MYB de unión a DNA, aparecía como sobreexpresado. El factor de transcripción tipo WRKY, que está involucrado en varios procesos fisiológicos como mecanismos de defensa contra patógenos y senescencia, mostró un gen ligeramente sobreexpresado. Hay un gen silenciado que pertenece al factor de transcripción de señalización de brasinoesteroides (BRZ).



Figura 12. Vista general en Mapman de los genes involucrados en transcripción (*transcription*) de la línea *etr1-1* 12. Los genes se representan individualmente por pequeños cuadrados expresados diferencialmente. En verde y rojo están representados los genes con una disminución o aumento respectivamente en comparación con el control en valores de Log₂ utilizando la escala de -1.5 a +1.5.

Otros genes clasificados como factores de transcripción, mostraron tanto silenciamiento como sobreexpresión, sin embargo el programa no pudo clasificarlos en ninguna categoría (*unspecified*, Figura 12).

Discusión de Resultados

Análisis de genes seleccionados para RNA-seq de las líneas *etr1-1* L10 y L12

En el análisis de RNA-seq, se identificaron 1214 genes con expresión diferencial significativa en relación al control para la línea *etr1-1* L12 y para la línea L10 se obtuvieron 685 genes diferencialmente expresados. Sin embargo, solo un total de 120 genes fueron comúnmente significativos en ambas líneas. La diferencia en el número de genes con expresión significativa entre ambas líneas se puede deber a que: A) El nivel de expresión del transgén es diferente para cada línea, lo que determinaría una diferencia en la sensibilidad al etileno para cada línea transgénica, dándonos una diferencia de expresión entre los genes. Hay que tener en cuenta que se trata de un sistema competitivo entre el gen mutado ectópico y el gen endógeno de fresa. B) En nuestro diseño se eligió el fruto en el estadio intermedio, ya que mostraba ser un estadio importante para identificar los cambios del etileno en los frutos transgénicos de cada línea, basándonos en los estudios previos sobre la expresión de los genes de síntesis de etileno. Sin embargo, este estadio quizás no es la etapa adecuada para el análisis, pues este estadio es una mezcla de células en diferentes etapas de desarrollo, lo que hace que las muestras no sean completamente homogéneas.

Por esto, se decidió seleccionar los genes mostrando diferencias significativas para al menos una de las líneas, mientras que en la otra se comportara de forma clara con la misma tendencia. Estos genes, un total de 382, fueron analizados con el programa MapMan, que permitía agruparlos por su relación a las diferentes funciones metabólicas.

MapMan es una herramienta guiada por el usuario, que muestra grandes conjuntos de datos en diagramas pictóricos que simbólicamente representan áreas de la función biológica en grandes conjuntos de datos en diagramas de las vías metabólicas u otros procesos (Thimm *et al.*, 2004). Los módulos *Scavenger* asignan los parámetros medidos a las categorías jerárquicas llamados *BINs* y *subBINs*. Una primera generación de TRANSCRIPTSCAVENGER mediante grupos de genes en la matriz de *Arabidopsis Affymetrix 22K* en más de 200 categorías jerárquicas, proporcionó un desglose del metabolismo central (por varias vías, hasta el nivel de la

enzima individual), y una visión general de metabolismo secundario y procesos celulares (Thimm *et al.*, 2004).

En los análisis del receptáculo en estadio intermedio de las líneas *etr1-1*, se observó que el mayor cambio de los genes fue en el estrés biótico y abiótico. Sabemos que la producción de etileno incrementa por diversas perturbaciones o por estrés. Estos disturbios pueden ser inducidos por agentes bióticos (como químicos, temperatura extrema, sequía, hipoxia, daño mecánico, encurvamiento), o biológicos (como enfermedades o daños por patógenos) (Abeles *et al.*, 2012). Estudios de Williamson demuestran que la producción de etileno fue estimulada por diversos tipos de lesiones en guisantes. La concentración de etileno era más abundante, mientras que la hoja era verde, disminuyó a medida que la hoja se convirtió en amarillo (Williamson, 1950). El etileno es esencial para muchos procesos de desarrollo y es un mediador clave en las respuestas al estrés biótico y abiótico en las plantas (Müller *et al.*, 2015) La vía de señalización de etileno y la respuesta incluye los factores de respuesta a etileno (ERF), que pertenecen a la familia de factores de transcripción AP2/ERF. Es bien sabido que los ERFs regulan la respuesta molecular al ataque de patógenos mediante la unión a la caja de GCC, un elemento que actúa en cis (Müller *et al.*, 2015). Sin embargo, estudios recientes sugieren que varios ERF también se unen a los elementos de respuesta de deshidratación (DRE) y que actúan como un centro regulador clave en la respuesta de las plantas a estreses abióticos. Por lo que Müller sugiere que los ERFs actúan como reguladores clave en la integración del etileno, el ABA, el jasmonato y la señalización redox en la respuesta de la planta a un número de estreses abióticos (Müller *et al.*, 2015).

Del análisis global por Mapman se identificaron algunos grupos de genes que se consideraron de especial relevancia para tener una visión de la acción del etileno en el receptáculo de fresa. Estos grupos corresponden a los genes diferencialmente expresados correspondientes a la acción de las hormonas, a factores de transcripción y a genes relacionados con estrés biótico y abiótico.

Genes relacionados con las Hormonas

Los genes que mostraron cambios en su expresión relacionados con las hormonas fueron los siguientes

Etileno

Relacionado con el etileno es el gen de *F. × ananassa* con mayor homología al gen de *F. vesca* (01202); anotado como ácido 1- carboxílico-1-aminociclopropano oxidasa, el que mostró un aumento importante en los valores de expresión en el receptáculo de *etr1-1* comparado con el control. Este gen corresponde al gen previamente identificado como *FaACO1* (Trainotti et al., 2005). La expresión de fresa en este gen fue estudiada con anterioridad por nuestro laboratorio en los frutos de fresa *F. × ananassa*, mostrando la expresión mayor en los receptáculos blanco y rojo en relación al estadio verde (Merchante et al., 2013a). En el genoma de *F. vesca* se han identificado hasta 14 genes anotados como posibles *FvACO*s (Shulaev et al., 2010), aunque en el análisis del transcriptoma de los frutos de *F. × ananassa* se ha comprobado que solo 7 posibles *FaACO*s se expresan en este órgano (Sánchez-Sevilla et al., sin publicar), pero el que tiene mayor expresión de todos ellos es *FaACO1*. Este gen en el receptáculo presenta un mínimo valor de expresión en el estadio intermedio en los estudios de expresión por RNAseq (Sánchez-Sevilla et al., sin publicar). Su mayor expresión en el receptáculo de *etr1-1* puede reflejar un posible mecanismo *feed-back* negativo de regulación de la expresión de este gen por el etileno. En los estudios de Bulens et al., (2014) con frutos de una especie de la familia Rosacea, como la manzana, observó el cambio en la biosíntesis de etileno en cuatro condiciones: 1) El enfriamiento de la manzana en condiciones de aire regulares, 2) A baja temperatura cambiando la composición del gas de la atmósfera de almacenamiento en una atmósfera controlada (CA) que consistía en la reducción de O₂ y elevado CO₂, 3) A baja temperatura cambiando la composición del gas de la atmósfera controlada por aire regular y 4) Con el calentamiento de la fruta a temperatura ambiente. Los rápidos cambios en la producción de etileno que se produjeron durante estos eventos fueron seguidos mediante métodos de detección de etileno en línea continua, lo que les permitió monitorear hasta tener la dinámica de cambios del etileno en tiempo real. También emplearon una aplicación del inhibidor de etileno 1-metilciclopropeno (1-MCP), el cual permitió la discriminación entre los cambios mediados por el etileno y los cambios independientes de etileno. Estudiaron los cambios en expresión y actividad de las dos enzimas de la síntesis de etileno, 1-aminociclopropano-1-carboxilato sintasa (ACS) y 1-aminociclopropano-1-carboxilato oxidasa (ACO). Observaron que los cambios en la actividad ACS estaban correlacionados con cambios en la expresión de *ACS1*, y estaban regulados por el aumento en la producción de etileno inducido por el frío durante la fase de enfriamiento temprano. Sin embargo, la transcripción de *ACS3* actuó como etileno

independiente y se desencadenó tras el calentamiento de las manzanas almacenadas en atmósfera controlada. Por otro lado, el aumento de expresión de *ACO1* llevó a un fuerte aumento de la actividad 1-aminociclopropano-1-carboxilato oxidasa (*ACO*), el cual es necesario para la producción exponencial del etileno durante el sistema 2 (este sistema opera durante la maduración de los frutos climatéricos y durante la senescencia del pétalo, cuando el etileno es auto-estimulado y requiere la inducción tanto de *ACS* como *ACO*). La expresión de *ACO2* y *ACO3* aumentaba en los tratamientos con 1-MCP, el cual revelaba una correlación negativa con la producción de etileno (Bulens *et al.*, 2014). Una situación similar pudiera ocurrir con *FaACO1* donde el aumento de expresión en el receptáculo de *etr1-1* muestra una inhibición *feed-back negativa* que autorregula la producción de etileno en el proceso de maduración.

Auxina

El gen *05434* en *F. vesca* está anotado como *PIN1* (*pin-formed*), el cual está implicado en el transporte direccional de la auxina. Su homólogo en *F. × ananassa* en el receptáculo *etr1-1* presentó una disminución en su expresión, mostrando el valor más alto de silenciamiento entre los genes relacionados con esta hormona. Sin embargo, otro gen de *F. vesca* (*12312*) anotado como *PIN2*, también está involucrado en el transporte de la auxina, y es un componente del transporte polar de la auxina (PAT) en la raíz, con respuesta gravitrópica, mostró sin embargo, un aumento en su expresión. Ambos genes son componentes del transporte polar de la auxina, se localizan en la membrana plasmática y permiten la distribución de la auxina y su homeostasis intracelular. En *Arabidopsis* el gen *PIN2* es más importante en el mantenimiento del meristemo de la raíz (Li K *et al.*, 2015), mientras que una disminución en la actividad de *PIN1* provoca la acumulación de la auxina (Yuan *et al.* 2013). De cualquier forma, la expresión de estos dos genes de *F. × ananassa* es muy baja en el receptáculo del fruto de fresa, inferior a 0.2 FPKM, según los estudios de expresión por RNA-seq (Sánchez-Sevilla *et al.*, sin publicar), a lo largo de la maduración. Así hay otro *PIN2* anotado en el genoma de *F. vesca* (gen *31841*) cuyo homólogo en *F. × ananassa* presenta en el receptáculo en estado intermedio una expresión de 110 FPKM, y otro *PIN1* (gen *09384*) cuyo homólogo en *F. × ananassa* tiene una expresión en el mismo estadio intermedio de 4.6 PFKM (Sánchez-Sevilla *et al.*, sin publicar). La expresión de estos dos últimos genes no muestran diferencias en el receptáculo de las plantas *etr1-1* en relación al control. En la bibliografía no hemos encontrado una regulación transcripcional de los genes *PIN* por etileno. Así pues, el

significado y relevancia de los resultados obtenidos en nuestro estudio sobre los posibles *FaPIN1* y *FaPIN2* no está claro, a pesar de que el cambio relativo sobre todo en un posible *FaPIN1* es muy alto.

El gen de *F. × ananassa* correspondiente al 09733 en *F. vesca* (*ARF18*) mostró una disminución de su expresión en el receptáculo de las plantas *etr1-1* en relación al control. Por el contrario el gen 14094 en *F. vesca* identificado como *ARF15* mostró en *F. × ananassa* un aumento en la expresión. Estos genes pertenecen a la familia de los factores de transcripción que regulan la expresión de genes con respuesta a la auxina (Guilfoyle, 2007). En muchas especies es una familia compleja, con un elevado número de componentes. En el genoma de *F. vesca* se han identificado hasta 17 miembros (Kang *et al.*, 2013), no siendo estos dos *ARFs*, los de expresión más elevada en el receptáculo del fruto de fresa (*F. × ananassa*) (Tabla 12, Capítulo 1). Efectivamente, la expresión de la familia génica en el receptáculo de fresa muestra un patrón variado para cada uno de ellos (Sánchez-Sevilla *et al.*, no publicado), lo que es una muestra de su diversificación e implicación en diferentes procesos. Aunque el dominio de unión a DNA parece conservado y se ha identificado en muchos de sus miembros (Boer *et al.*, 2014), sus dianas están por identificar. Esto se considera esencial para entender la acción específica de la hormona auxina en procesos muy diferentes.

El gen de *F. × ananassa* correspondiente al gen 10566 de *F. vesca* mostró un aumento en su expresión en las plantas *etr1-1*. El correspondiente de este gen en *F. vesca*, está anotado como *putative indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3*. Los miembros de la familia Gretchen Hagen 3 (GH3) pueden catalizar la conjugación dependiente de ATP de aspartato a IAA, lo cual permite controlar los niveles de auxina en la célula (Wang X, *et al.*, 2015). No es el único gen anotado como *GH3* en el genoma de *F. vesca*. Otros siete genes están anotados como putativos *GH3* en *F. vesca* (genes 27740, 18907, 24005, 22838, 03265, 10286, 23026). Todos sus homólogos en *F. × ananassa* muestran expresión en receptáculo, a niveles similares pero con diferentes patrones de expresión (Sánchez-Sevilla *et al.*, sin publicar). En el caso del homólogo del gen 10566 disminuye la expresión con la maduración. Su mayor expresión en las líneas *etr1-1* puede ser una indicación de su inducción por etileno. Esta posibilidad es una información valiosa para desvelar la relación etileno-auxina en el desarrollo y maduración del receptáculo de fresa.

Hay otros genes que se han descrito como inducidos por la auxina, aunque de funciones muy distintas, que también tienen alterada su expresión en el receptáculo de las plantas *etr1-1*. Así, el gen de *F. vesca* 11154, anotado como *Auxin-induced protein 5NG4*, también mostró un aumento en los valores de Log₂ al comparar la expresión de *etr1-1* en relación al control. Este gen en *Pinus taeda* L está fuertemente inducido por la auxina en las raíces e hipocótilos, y participa en la formación de raíces laterales y adventicias (Smolka *et al.*, 2009). También otros dos genes identificados en *F. vesca* como *Indole-3-acetic acid-induced protein ARG7* y *ARG2*, los genes 10434 y 10617, respectivamente, tienen su expresión en *F. × ananassa*, aumentada en el receptáculo de las plantas *etr1-1*. La función de estos genes en el receptáculo de fresa está por conocer, no obstante, en relación a este trabajo soportan la relación etileno-auxina en este proceso de desarrollo.

El gen 16556 se identificó en *F. vesca* como una *Auxin-induced protein PCNT115*, mostrando el homólogo de *F. × ananassa* un aumento de expresión en el receptáculo de las plantas *etr1-1*. La proteína PCNT115 pertenece a la familia de las aldo-ceto reductasas. En soja mostró una expresión específica en raíz y su expresión fue inducida por auxina y asociada como respuesta a estrés (Yoon-Sun Hur *et al.*, 2009), mientras que en crisantemo se considera la proteína más importante en la formación de nuevas raíces, siendo su expresión opuesta a la de la ACC oxidasa en la formación de raíces adventicias (Liu *et al.*, 2013). En el receptáculo de fresa, su aumento de expresión en receptáculo de *etr1-1* refleja una relación opuesta en relación al etileno

El conjunto de genes cuya expresión está alterada en el receptáculo de *etr1-1* nos indican una relación entre etileno y auxina en este tejido. Nuestro modelo es el de plantas parcialmente insensibles a etileno (Merchant *et al.*, 2013a). Los cambios de expresión asociados a este hecho muestran que la acción del etileno, al menos en parte y a diferentes niveles, es mediatizada por la auxina. Esto está de acuerdo con el aumento de expresión de los genes *FaTAA1* y *FaTAR2* previamente encontrados en el receptáculo maduro de las plantas *etr1-1* en relación a las plantas no transformadas en estudios de expresión por qRT (Vallarino *et al.*, no publicado).

En varios estudios sobre la interacción entre la auxina y el etileno se ha mostrado que estas hormonas interactúan entre si, ya sea de forma sinérgica, como

controlando los procesos de crecimiento y desarrollo específicos, tales como la elongación y formación de la raíz principal, o antagónicamente, como es el caso de la formación de raíces laterales y la elongación del hipocótilo (Muday *et al.*, 2012). A un nivel transcripcional, se ha observado que el gen ACC sintasa (ACS), que cataliza el primer paso de la biosíntesis de etileno, está aumentado por la aplicación exógena de auxina (Tsuchisaka y Theologis, 2004). Por otro lado, se ha demostrado que el etileno regula la biosíntesis de la auxina, de una forma específica de los tejidos, en procesos tales como la inhibición del crecimiento en las raíces o la elongación celular diferencial en ganchos apicales (Stepanova *et al.*, 2005, 2008;. Vandebussche *et al.*, 2010; Zadnikova *et al.*, 2010;. Gallego- Bartolomé *et al.*, 2011; Robles *et al.*, 2013). La interacción transcripcional entre etileno y auxina no solo se limita a genes biosintéticos. Otro estudio ha demostrado que el etileno promueve el transporte de auxina desde el meristemo hacia la zona de elongación de la raíz, donde el aumento de auxina resultante, desencadena el proceso conocido como inhibición del crecimiento radicular mediado por etileno (Lewis *et al.*, 2011). Estudios *high-throughput* revelaron que, aunque el etileno y la auxina desencadenan respuestas fenotípicas similares, tales como la inhibición del crecimiento de la raíz, las dos hormonas comparten relativamente pocos genes diana comunes, lo que sugiere que, en general, diferentes hormonas vegetales utilizan rutas únicas para regular procesos similares (Muday *et al.*, 2012;. Zheng *et al.*, 2013). A nivel post-transcripcional, Stepanova *et al.* (2007) mostró que la respuesta mediada por EIN3 inducida por etileno en la zona de transición de la raíz, requiere altos niveles de actividad de las auxinas en esta región (Stepanova *et al.*, 2007). Más tarde, un análisis más detallado por He *et al.*, (2011) descubrieron que los niveles de proteína del regulador transcripcional de la respuesta de etileno, EIN3, es inducido por la auxina (He *et al.*, 2011). En la fresa, se ha demostrado que la acción de la auxina es importante en el desarrollo del receptáculo, aunque también posiblemente en la maduración del mismo. El etileno, atendiendo al valor de la expresión de los genes de biosíntesis (Merchante *et al.*, 2013a) también debe participar en ambos momentos del desarrollo. Sin embargo, la relación entre ambas hormonas en estos procesos de desarrollo no se ha mostrado. Estos resultados pueden abrir la puerta a los estudios de esta interacción.

Giberelina

El gen *11731* de *F. vesca*, anotado como giberelina 3-beta-oxidasa 3 (*GA3ox3*), en su correspondiente en *F. × ananassa* presentó una disminución en su

expresión en el receptáculo *etr1-1*. Por otro lado, los genes 31337 y 24392 de *F. vesca*, anotados como: giberelina 2-beta-oxidasa 1 (Ga2ox1) y giberelina 2-beta-oxidasa (GA2ox2) respectivamente, mostraron en su homólogo de *F. × ananassa* un aumento en su expresión en las líneas *etr1-1* en relación al control. De estos dos genes, el gen correspondiente al gen 31337 (*FvGA2ox1*), presentó el mayor aumento de la expresión en términos de Log₂, y tiene una expresión absoluta mayor en valores de RPKM en comparación con los otros genes de la familia GA2ox. La GA3ox convierte GA9 y GA20 a giberelinas bioactivas GA4 y GA1. La GA2-oxidasa por otro lado, desactiva a las GAs mediante la hidroxilación en la posición 2. En algunos casos realiza una oxidación adicional a un C-2 dando una función cetona. En el receptáculo de fresa los patrones de expresión *FaGA3ox* y *FaGA2ox* son consistentes con una acumulación continua de las GAs en el receptáculo entre la etapa verde y la etapa blanca (Csukasi *et al.*, 2011). Sin embargo, hay una disminución considerable de la GA en su forma bioactiva en el receptáculo rojo (Csukasi *et al.*, 2011). La disminución en la expresión del gen identificado como *FaGA3ox* y el aumento de expresión del gen identificado como *FaGA2ox* en los frutos *etr1-1* en relación al control, nos sugiere que el nivel de giberelinas puede estar reducido en el receptáculo en estadio intermedio de las líneas transgénicas *etr1-1*. Interesante es que en el receptáculo de fresa se ha encontrado que la expresión de *FaGA3ox* varía, y disminuye al retirar los achenios del receptáculo, y por tanto al disminuir los niveles de auxina (Csukasi *et al.*, 2011). Estos cambios en los genes de síntesis e inactivación de GAs en el receptáculo de las plantas *etr1-1* añaden un elemento adicional a la relación auxina-giberelina previamente encontrada (Csukasi *et al.*, 2010) en el receptáculo del fruto de fresa.

Genes relacionados con los factores de transcripción

Los genes diferencialmente expresados, que tienen la función de factores de transcripción y que mostraron un aumento o disminución en su expresión fueron los siguientes:

El homólogo del gen 19709 de *F. vesca*, identificado con la función de factor de transcripción del tipo *Altered Phloem Development* (APL), presenta en *F. × ananassa* un aumento en su expresión en comparación con el receptáculo sin transformar. El gen APL codifica un factor de transcripción del tipo MYB, y se la ha asignado una doble función, tanto en la promoción de la diferenciación del floema como en la respiración durante el desarrollo vascular en *Arabidopsis* (Bonke *et al.*, 2003). En la fresa, algunos factores de transcripción, que codifican genes MYB han

sido asociados con la síntesis de flavonoides, tales como: *FaMYB10* (Medina-Puche *et al.*, 2014) y *FaMYB1* (Aharoni *et al.*, 2001), el primero actúa como un activador transcripcional y el segundo como un represor de un subconjunto de genes de la vía. En la estadio blanco del receptáculo, el contenido de la GA es más alto (Csukasi *et al.*, 2011) y coincide con la más alta expresión de *FaGAMYB*, que es otro factor de transcripción MYB (Csukasi *et al.*, 2012). Estudios recientes en nuestro laboratorio mostraron que este gen *FaGAMYB* juega un papel regulador global en la maduración del receptáculo de la fresa (Vallarino *et al.*, 2015). Sin embargo, el cambio de expresión observado en el gen *FaAPL* en las plantas *etr1-1* puede apuntar a su participación en un proceso diferente, tal como la regulación del desarrollo vascular que sea dependiente del etileno, o auxina en la medida que su acción puede ser modulada por etileno o viceversa, en el receptáculo de fresa. La formación del sistema vascular en un proceso importante en el desarrollo del fruto de fresa (Aharoni *et al.*, 2002). La expresión de *FaAPL* durante la maduración del receptáculo desciende significativamente desde el estadio verde al estadio rojo (Sánchez-Sevilla *et al.*, no publicado)

El gen 30439, identificado en *F. vesca* como *NAC domain-containing protein 18* (*NAC018*) mostró en su correspondiente en *F. × ananassa* un aumento en su expresión en el receptáculo *etr1-1*. Los factores de transcripción NAC regulan una serie de procesos biológicos y tienen numerosas ventajas en ambas vías de señalización, tanto de estrés biótico como abiótico. En *Arabidopsis* se encuentran 117 miembros de esta familia NAC, y algunos funcionan como factores de transcripción de la respuesta a estrés abiótico en las vías de señalización dependiente de ABA (Lu *et al.*, 2015). En tomate hay 42 factores de transcripción que pertenecen a la familia NAC y se clasificaron en más de 12 grupos, donde su análisis filogenético indica una diversificación funcional de la familia de genes NAC (Yang *et al.*, 2011). Los resultados de expresión por qRT-PCR mostraron que *SINAM1* fue altamente expresado en el tejido de la flor y del fruto maduro del tomate, lo que indica su papel potencial en el desarrollo de órganos. Y la expresión inducible por sal de este gen sugiere su posible papel en la tolerancia al estrés (Yang *et al.*, 2011). En fresa se ha identificado otro miembro de la familia NAC con una función importante en el desarrollo del fruto (Posé *et al.*, no publicado). En el caso de este gen *FaNAC18* se sabe que su expresión aumenta significativamente desde estadio verde a estadio rojo (Sánchez-Sevilla *et al.*, no publicado). Sin embargo, su asociación a alguno de los cambios moleculares que ocurren en la maduración del receptáculo es desconocida.

El gen 01338 en *F. Vesca*, identificado como *Squamosa promoter-binding-like protein 13*, la expresión del homólogo en la fresa *F. × ananassa* mostró una disminución en su expresión en el receptáculo de las frutos *etr1-1*. Las proteínas *Squamosa promoter-binding-like protein (SBP)*, constituyen una familia diversa de factores de transcripción y se definen por tener una región altamente conservada de 76 aminoácidos llamados “dominio SBP”. Estas proteínas juegan un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo de la planta, especialmente en la flor y en el desarrollo de los frutos. En *Arabidopsis* hay 16 genes *SBP-box*, y en *Prunus mume*, se han identificado 15 genes (Xu *et al.*, 2015). En el tomate, el gen *SBP-box Colorless Non-Ripening (CNR)* es fundamental para la maduración del fruto, y una mutación epigenética en el promotor de este gen, ha demostrado inhibir la maduración del fruto (Manning *et al.* 2006). En *Arabidopsis* un miembro de la familia, SPL9, que es diana de miR153, regula negativamente la biosíntesis de antocianinas por desestabilización del complejo de regulación transcripcional MYB-bHLH-WD40 (Gou *et al.*, 2011). En arándano, también un miembro de la familia SPL, se ha mostrado que participa en el control de la síntesis de antocianinas, probablemente por interacción con el complejo regulador de la transcripción de los genes de biosíntesis de antocianinas (Jaakola *et al.*, 2010). Un estudio reciente mostró que algunos genes *SBP-box-miR156* regulan el desarrollo temprano del fruto en el tomate (Silva *et al.* 2014). Toda esta información sobre este gen en otras especies parece indicar que puede estar involucrado en la síntesis de flavonoides en el receptáculo del fruto de fresa durante la maduración. Los estudios de expresión en este órgano por RNAseq indican que la expresión es elevada y tiene un mínimo de expresión en el estadio rojo, cuando la síntesis de antocianinas es elevada.

El correspondiente en *F. × ananassa* al gen 14190 de *F. vesca*, anotado como *Ethylene-responsive transcription factor ABI4 (ERF ABI4)*, mostró una disminución en receptáculo de *etr1-1* comparado con el control, en términos de Log₂. El gen *ABA-Insensitive 4 (ABI4)*, es un miembro de la familia *AP2/ERF*. Los miembros de esta familia se unen específicamente a los elementos *ABRE (ABA Binding Response Element)* en los promotores de los genes de respuesta al estrés abiótico y regula su expresión (Ferreira e Silva *et al.* 2014). El gen *ABI4* se ha descrito que tiene respuesta a ABA y está involucrado en varios procesos durante la maduración del tomate, en la germinación de semillas, en la síntesis y degradación de lípidos (Ferreira e Silva *et al.*

2014). El cambio observado en este gen *FaABI4* tiene interés especial pues se sabe que el ABA juega un papel importante en la maduración del fruto de fresa (Jia et al., 2011). Su disminución en receptáculo de *etr1-1* en relación al control indicaría que su expresión es dependiente positivamente del etileno. Si esto es una indicación de la interacción etileno/auxina con ABA en la maduración del receptáculo debiera ser estudiado.

En general, los factores de transcripción anteriormente indicados presentaron un aumento en su expresión en la plantas *etr1-1* en relación al control, a excepción del gen identificado como factor de transcripción squamosa (*FaSBP*), que en el tomate está involucrado en la maduración del fruto (Ferreira e Silva et al. 2014). Nuestros resultados muestran que su expresión responde a etileno. Si la función de SBP en fresa es de regulación del proceso de maduración, tal como se propone para el homólogo en tomate, o está relacionado con la síntesis de antocianinas, está por estudiar. En este sentido hay que indicar que el análisis de los frutos *etr1-1* mostró una disminución del contenido de compuestos fenólicos en el fruto en relación al control no transformado, así como una disminución en la expresión de *FaMYB1*, que participa en el control de la síntesis de flavonoides (Merchante et al., 2013a).

Genes relacionados con defensa en el estrés biótico y abiótico

El gen 29525, de *F. vesca* está anotado como *BES1/BZR1*. El correspondiente en *F. × ananassa* mostró una disminución en su expresión en receptáculo *etr1-1* en comparación con el control. El gen *BES1/BZR1* participa como factor de transcripción en la modulación de la respuesta a los brasinoesteroides, una vez que es defosforilado y transportado al núcleo (Pereira-Netto, 2007). Su participación en la regulación transcripcional, se considera clave tanto por integrar múltiples señales relacionadas con el desarrollo, como con defensa (Lozano-Durán et al., 2015). En el receptáculo de fresa su patrón de expresión es similar al de *FaSBP*, con mínimo en estadio rojo y máximo en estadio blanco (Sánchez-Sevilla et al., no publicado).

El homólogo del gen 14452 de *F. vesca*, anotado como una citoquinina deshidrogenasa 1 *CKO1*, mostró un aumento en su expresión en el receptáculo de *etr1-1*. Las citoquinina oxidasa/deshidrogenasa, *CKO*, inactivan a las citoquininas

degradándolas irreversiblemente en plantas. La reacción de las CKO, se logra a través de la escisión oxidativa de su cadena N6, que resulta en la formación de adenina y en un derivado de aldehído como por ejemplo 3-metil-2- butenal del sustrato de adenina N6 (Δ^2 -isopentenil) (Franc *et al.*, 2012). Las proteínas CKO, se ha propuesto que regulan la respuesta al estrés biótico mediante la señalización de las citoquininas. (Franc *et al.*, 2012).

Los genes 24308 y 28200 en *F. vesca*, están anotados como citoquinina-O-glucosiltransferasa 2 (ZOG2) y el gen 00095, como una citoquinina-O-glucosiltransferasa (ZOG1). El correspondiente al gen 24308 (ZOG2) en *F. × ananassa*, mostró un aumento en su expresión, mientras que el correspondiente al gen 28200 (ZOG2), presentó una disminución, al igual que el correspondiente al gen 0095, anotado como ZOG1. La citoquinina biológicamente activa es la trans-zeatina y se almacena como zeatina-O-glucósido (ZOG), aunque estudios recientes muestran que la cis-zeatina también es activa y tiene un papel importante en el crecimiento y desarrollo del maíz (Kudo *et al.*, 2012). La glicosilación de la citoquinina, al igual que de otras hormonas, implica el almacenamiento de las mismas como forma inactiva (Kieber *et al.*, 2014). En arroz se han identificado tres genes cis zeatina-O-glucosiltransferasas: *cZOGT1*, *cZOGT2* y *cZOGT3* cuyas enzimas catalizan *in vitro* preferentemente la O-glicosilación de cis zeatina y el ribosido de cis zeatina (CZR) frente a la trans zeatina (Kudo *et al.*, 2012). Los cambios de expresión opuestos de los genes de fresa correspondientes a *citoquinina-O-glucosil transferasas* en el análisis de RNA-seq en las plantas *etr1-1* pueden reflejar aspectos diferentes de la acción de las citoquininas en el receptáculo. En los primeros estadios puede estar relacionado con la activa división celular, y en los estadios más avanzados con la capacidad de respuesta a estrés abiótico, donde las citoquininas juegan un papel importante en la señalización y facilitan que las plantas tengan una adaptación al estrés (Ha *et al.*, 2012).

El gen 01539 de *F. vesca*, está anotado como *peroxidasa*, *POD73*, El correspondiente de *F × ananassa* presentó un aumento en su expresión en términos de Log^2 de la diferencia entre *etr1-1* y control. Las peroxidasas reducen el peróxido de hidrógeno a agua por catalizar la oxidación de diversos sustratos. La gran cantidad de sustratos posibles descritos para la actividad peroxidasa explica el elevado número de genes encontrados en la familia génica dentro de una especie. En el genoma de *F.*

vesca se han anotado hasta 60 genes anotados como peroxididasas (Kang *et al.*, 2013). En relación al desarrollo del fruto las peroxididasas se han asociado a la síntesis de fenoles y lignina así como en respuestas de defensa a estrés (Wang C *et al.*, 2015). En fresa, se ha propuesto que la peroxidasa FaPOD27 participa en la síntesis de lignina que ocurre en la maduración del fruto, y en respuesta a la infección por *Agrobacterium* (Yeh *et al.*, 2014)

El homólogo al gen 21218 de *F. vesca*, anotado como codificante de una 23.6 kDa *heat shock protein mitochondrial (HSP)*, mostró en *F. × ananassa* un aumento en su expresión en el receptáculo de *etr1-1*. La proteína HSP23.6 pertenece al grupo de las *small heat shock proteins (sHSPs)* que en las plantas forman una familia compleja y diversa, la mayoría están reguladas por estrés térmico, oxidativo y/o osmótico (Wang *et al.*, 2004). Actúan como chaperonas moleculares (Montfort *et al.*, 2002) y su expresión está también asociada a procesos de desarrollo (Waters *et al.*, 2008). En receptáculo de fresa este gen tiene una expresión baja (2.5-7-5 RPKM) con un mínimo en estadio intermedio y un máximo en estadio rojo (Sánchez-Sevilla *et al.*, no publicado).

El gen 18413 en *F. vesca* está identificado como *Metallothionein like protein MEt1 type2* y en su correspondiente en *F × ananassa* mostró un aumento en receptáculo de *etr1-1* en relación al control. Las metalotioneínas son una clase de pequeñas proteínas ricas en cisteína, que se han asociado con una mayor tolerancia al estrés oxidativo y de metales en animales, plantas y hongos (Benatti *et al.*, 2014). En frutos de fresa son una de las proteínas con mayor nivel de expresión (Bombarely *et al.*, 2010). Estudios recientes produjeron unas plantas de *Arabidopsis* deficientes en cuatro MTs (MT1A/MT2A/MT2b/MT3), mostraron que, son importantes para la homeostasis y distribución del cobre (Cu) en *Arabidopsis* (R-Benatti *et al.*, 2014). El Cu es necesario para muchos procesos esenciales en plantas, incluyendo la fotosíntesis, la respiración, la percepción de etileno, el metabolismo de las especies reactivas de oxígeno y las paredes celulares (Penarrubia *et al.*, 2009). La expresión de este gen en el receptáculo de fresa es muy alto (superior a 4.700 RPKM) descendiendo drásticamente hasta 161 RPKM en estadio rojo (Sánchez-Sevilla *et al.*, no publicado). Sus niveles de expresión y su posible regulación por etileno hacen que sea una diana interesante para su estudio.

El gen 25758 en *F. vesca*, que fue identificado como *ethylene-responsive transcription factor TINY*, mostró en su correspondiente en *F. × ananassa* una disminución en su expresión. En *Arabidopsis* la expresión de este gen fue activada a un alto nivel por el tratamiento por sequía, frío y etileno (Sun *et al.*, 2008), postulándose que podía jugar un papel en la interconexión de las respuestas de expresión génica a los estreses abiótico y biótico. El nivel de expresión bajo en todos los estadios de desarrollo del receptáculo (inferior a 1.7 RPKM) (Sánchez-Sevilla *et al.*, no publicado) y la complejidad de la familia génica hacen difícil interpretar este resultado en términos funcionales.

El gen de *F. vesca* 14308 está descrito como una proteína de resistencia RPP-13 y el homólogo en *F. × ananassa* mostró una disminución en su expresión en el receptáculo de las plantas *etr1-1*. Este gen de resistencia es de los más polimórficos descritos en *Arabidopsis* (Bakker *et al.*, 2006), siendo esta diversidad alélica asociada a la capacidad de reconocer proteínas de patógenos diferentes (Hall *et al.*, 2009). En el receptáculo de fresa es un gen de expresión baja, con máximo en estadio intermedio (Sánchez-Sevilla *et al.*, no publicado).

El homólogo en fresa *F. × ananassa* del gen 07080, que está anotado como codificante de la proteína alergénica Pru av 1, presenta una disminución en su expresión en el receptáculo de las plantas *etr1-1*. En fresa este gen corresponde a *FaFra1* cuya expresión está asociada a la síntesis de flavonoides (Muñoz *et al.*, 2010). La proteína FaFra1 pertenece a la familia de las proteínas PR10 y su funcionalidad está asociada a la unión específica a catequina (Casañal, 2014). Su función en defensa y desarrollo es objeto de estudio en nuestro laboratorio.

El gen de *F. vesca* 10008, está anotado como codificante de la proteína metionina sulfoxido reductasas (péptido Met O). El correspondiente en *F. × ananassa* mostró una disminución en los valores de expresión comparado con el control. Las proteínas metioninas sulfoxido reductasas (MSR), catalizan la reducción de las metioninas sulfoxido (Met O) a metionina, protegiendo así a las proteínas contra el estrés oxidativo. Estas formas oxidadas de Met (Met O) pueden alterar la conformación de una proteína y hacerla no funcional. En consecuencia, las MSR se

han asociado con las respuestas al estrés, enfermedad, y la senescencia en una matriz diversa de organismos (Lee *et al.*, 2014). Se ha identificado el gen *Fapmsr* (*peptide methionine sulphoxide reductase* [Met(O)]) en *F. × ananassa* (López A *et al.*, 2006). En estos estudios, se mostró que la expresión del gen aumentaba después de 4 días al quitar los aquenios en los frutos verdes. Estos resultados indican que la expresión del gen *Fapmsr* podía estar regulada por auxina (López *et al.*, 2006). Nuevamente, se identifica un gen cuya expresión está relacionada tanto con el etileno, como con la auxina. La expresión de este gen en el receptáculo es significativa y aumenta hasta 5 veces desde el estadio verde al rojo (Sánchez-Sevilla *et al.*, no publicado).

Los genes de *F. vesca* 19212 y 21697, se identificaron como codificantes de proteínas endo-quitinasas. Los genes correspondientes en *F. × ananassa* mostraron un aumento en su expresión en el receptáculo en comparación con los frutos no transgénicos. Las quitinasas son glicosil hidrolasas, que catalizan la degradación de la quitina, un polímero de N-acetilglucosamina (GlcNAc) encontrado en las paredes celulares de los hongos (Watanabe *et al.*, 1999). Aunque las plantas superiores carecen de quitina, albergan genes de quitinasas que se expresan en respuesta a patógenos, o a señales de desarrollo en los tejidos susceptibles (Collinge *et al.*, 1993). Se ha demostrado que la actividad global quitinasa es inducida en plantas de fresa, a un nivel significativo, cuando en las plantas son dañadas físicamente, o tratados con ácido salicílico, o tratadas con etefón (compuesto que produce un ión fosfato y etileno) (Khan, 2002). Estos resultados destacan la importancia de las quitinasas en la fresa en respuesta a ambos estreses bióticos y abióticos. En la fresa se han clonado tres genes de quitinasa: una quitinasa de clase III de la familia de PR8 (*FaChi3-1*) (Khan *et al.* 1999), y dos quitinasas de clase II de la familia de PR3 (*FaChi2-1* y *FaChi2-2*) (Khan y Shih 2004), que corresponden a otros miembros de la familia.

El análisis de MapMan de los resultados de RNA-seq de las plantas de fresa insensibles a etileno, muestra que se vieron afectados principalmente los genes de respuesta a estrés biótico y abiótico, al disminuir la sensibilidad a esta hormona. Sabemos que la producción de etileno está ligado a estos estreses. En los genes afectados por el estrés encontramos varios relacionados con las citoquininas y brasinoesteroides. Las plantas *etr1-1* han presentado una sensibilidad a patógenos, principalmente a hongos comparados con el control (datos no mostrados), esto se

puede explicar porque algunos de los genes con respuesta a patógenos están alterados. También observamos que están afectados los genes de auxina, como factores de transcripción, transporte, señalización y otros genes inducidos por esta fitohormona mostrando en general un incremento en su expresión. Esto nos puede sugerir que al disminuir la sensibilidad de etileno, la homeostasis de la auxina incrementa posiblemente para mantener un adecuado desarrollo de la planta y del fruto, indicándonos que posiblemente la acción de la auxina en la fresa se lleve a cabo primero que el etileno. Sin embargo, esto se debe confirmar y en ello se está en nuestro laboratorio. El etileno, aunque no es clave para la regulación global de la maduración del fruto de fresa, sí que parece estar implicado en algunos procesos específicos que tienen lugar durante este proceso, tales como el metabolismo de flavonoides, la estructura de la pared celular, la respuesta a patógenos, la producción de aroma. En su acción, interacciona directa, o indirectamente, con otras hormonas como el ABA o las citoquininas, además de la auxina. El presente trabajo, al igual que muchos otros de estudios sistémicos, no aporta pruebas funcionales contundentes sobre el problema de desarrollo que se estudia. No obstante, sí identifica con algo de nivel de fiabilidad a elementos importantes que deben ser ulteriormente estudiados para obtener información funcional valiosa del proceso objeto de estudio.

Conclusiones

- La expresión de los genes de biosíntesis de la ruta IPA mostraron un patrón de expresión en aquenios y receptáculo específica para cada uno. Los genes *FaTAA1*, *FaTAR2*, *FaYUC2* y *FaYUC7* mostraron expresión en los últimos estadios de maduración del receptáculo del fruto de fresa, siendo *FaTAR2* el que mostró su mayor valor en receptáculo rojo.
- La proteína fusionada GST-*FaTAA1* producida en *Escherichia coli* mostró actividad aminotransferasa *in vitro*, lo que fue comprobado tanto por ensayo de actividad en gel como por detección de productos por HPLC.
- El silenciamiento transitorio mediante RNAi del gen *FaTAR2* en receptáculo, mostró cambios en la expresión de los genes *Aux/IAA 8* y *Aux/IAA11* y en los genes de respuesta a auxina (*ARF4* y *ARF6a*), lo que soporta una función de la auxina en la fase final de maduración del receptáculo.
- Los resultados del análisis transcriptómico en el receptáculo de fresa en estadio intermedio de las plantas con insensibilidad a etileno, mostraron cambios en genes involucrados en; el metabolismo de flavonoides, en los cambios de la pared celular, en respuesta a patógenos y, principalmente, en las respuestas a diversas hormonas relacionadas con el estrés biótico y con la maduración del fruto. Esto confirma que el etileno, aunque no es esencial en la maduración de la fresa, interviene en procesos relevantes para el desarrollo del receptáculo y la calidad del fruto.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Referencias

- Aboles F B., Morgan P W., Saltveit M E, Jr** (2012). Ethylene in Plant Biology. Academic Press, New York, N Y, ISBN 0-12-0414511. **2nd Edition**:83-101 pp
- Adams DO, Yang SF** (1979). Ethylene biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc Natl Acad Sci USA* **76**: 170–4
- Aharoni A, Keizer LCP, Van Den Broeck HC, Blanco-Portales R, Munoz-Blanco J, Bois G, Smit P, De Vos RCH, O'Connell A P** (2002). Novel insight into vascular, stress, and auxin-dependent and -independent gene expression programs in strawberry, a non-climacteric fruit. *Plant Physiol* **129**: 1019-1031
- An F, Zhao Q, Ji Y, Li W, Jiang Z, Yu X, Zhang C, Han Y, He W, Liu Y, Zhang S, Ecker JR, Guo H** (2010). Ethylene induced stabilization of ETHYLENE INSENSITIVE3 and EIN3-LIKE1 is mediated by proteasomal degradation of EIN3 binding F-box 1 and 2 that requires EIN2 in Arabidopsis. *Plant Cell* **22**:2384–2401
- Aragüez I, Cruz-Rus E, Botella MÁ, Medina-Escobar N, Valpuesta V** (2013a). Proteomic analysis of strawberry achenes reveals active synthesis and recycling of L-ascorbic acid. *J Proteomics* **83**: 160–79
- Aragüez I, Osorio S, Hoffmann T, Rambla JL, Medina-Escobar N, Granell A, Botella MÁ, Schwab W, Valpuesta V** (2013b). Eugenol production in achenes and receptacles of strawberry fruits is catalyzed by synthases exhibiting distinct kinetics. *Plant Physiol* **163**: 946–58
- Archbold DD, Dennis FG** (1984). Quantification of free ABA and free and conjugated IAA in strawberry achene and receptacle tissue during fruit development. *J Am Soc Hortic Sci* **109**: 330-335
- Archbold DD, Dennis FG** (1985). Strawberry receptacle growth and endogenous IAA content as affected by growth-regulator application and achene removal. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **110**: 816-820
- Audran-Delalande C, Bassa C, Mila I, Regad F, Zouine M, Bouzayen M** (2012). Genome-wide identification, functional analysis and expression profiling of the Aux/IAA gene family in tomato. *Plant Cell Physiol* **53**: 659–72
- Bakker EG, Toomajian C, Kreitman M** (2006). A genome-wide survey of R gene polymorphisms in Arabidopsis. *The Plant Cell*. **18**: 1803–1818

- Barry CS, Blume B, Bouzayen M, Cooper W, Hamilton AJ, Grierson D** (1996). Differential expression of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene family of tomato. *Plant J* **9**:525–535
- Barry CS, Llop-Tous MI, Grierson D,** (2000) The regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expression during the transition from system-1 to system-2 ethylene synthesis in tomato, *Plant Physiol.* **123**: 979–986.
- Bartel B, Fink GR** (1994). Differential regulation of an auxin producing nitrilase gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* **91**: 6649–6653
- Benjamin, R. and Scheres, B.** (2008). Auxin: The Looping Star in Plant Development. *Annual Review of Plant Biology* **59**: 443-465
- Ben-Gera H, Shwartz I, Shao M-RR, Shani E, Estelle M, Ori N** (2012). ENTIRE and GOBLET promote leaflet development in tomato by modulating auxin response. *Plant J* **70**: 903–15
- Bernardi J, Lanubile A, Li Q-B, Kumar D, Kladnik A, Cook SD, Ross JJ, Marocco A, Chourey PS** (2012). Impaired auxin biosynthesis in the defective endosperm18 mutant is due to mutational loss of expression in the *ZmYuc1* gene encoding endosperm-specific YUCCA1 protein in maize. *Plant Physiol* **160**: 1318–1328
- Bleecker AB, Kende H** (2000). Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Annu Rev Cell Dev Biol* **16**: 1–18
- Boer D, Freire-Rios A, Berg W, Saaki T, Manfield I, Kepinski S, López-Vidriero I, Franco-Zorrilla J, Vries S, Solano R, et al** (2014). Structural Basis for DNA Binding Specificity by the Auxin-Dependent ARF Transcription Factors. *Cell.* **156**: 577-58
- Bombarely A, Merchante C, Csukasi F, Cruz-Rus E, Caballero JL, Medina-Escobar M, Blanco-Portales R, Botella MA, Muñoz-Blanco J, Sánchez – Sevilla JF, Valpuesta V** (2010). Generation and analysis of ESTs from strawberry (*Fragaria ×ananassa*) fruits and evaluation of their utility in genetic and molecular studies. *BMC Genomics.* **11**: 503
- Bonke M, Thitamadee S, Mähönen AP, Hauser M-TT, Helariutta Y** (2003). APL regulates vascular tissue identity in *Arabidopsis*. *Nature* **426**: 181–6
- Brumos J, Alonso J, Stepanova A** (2014). Genetic aspects of auxin biosynthesis and its regulation. *Physiol Plantarum* **151**: 3–12
- Brunoud G, Wells D, Oliva M, Larrieu A, Mirabet V, Burrow A, Beeckman T, Kepinski S, Traas J, Bennett M, Vernoux T** (2012). A novel sensor to map auxin response and distribution at high spatio-temporal resolution. *Nature* **482**: 103–106

- Bulens I, Van de Poel B, Hertog ML, Cristescu SM, Harren FJ, De Proft MP, Geeraerd AH, Nicolai BM** (2014). Dynamic changes of the ethylene biosynthesis in “Jonagold” apple. *Physiol Plant* **150**: 161–73
- Bustamante CA, Civello PM, Martínez GA** (2009). Cloning of the promoter region of b-xylosidase (FaXyl1) gene and effect of plant growth regulators on the expression of FaXyl1 in strawberry fruit. *Plant Science* **177**: 49–56.
- Calderón-Villalobos LI, Lee S, De Oliveira C, Ivetac A, Brandt W, Armitage L, Sheard LB, Tan X, Parry G, Mao H, Zheng N, Napier R, Kepinski S and Estelle M** (2012). A combinatorial TIR1/AFB-Aux/IAA co-receptor system for differential sensing of auxin. *Nat Chem Biol* **8**: 477–85
- Cara B, Giovannoni J** (2008). Molecular biology of ethylene during tomato fruit development and maturation. *Plant Science*. **175**: 106-113
- Casañal A, Zander U, Dupeux F, Valpuesta V and Marquez JA** (2013). Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of the strawberry allergens Fra a 1E and Fra a 3 in the presence of catechin. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*. **69**: 510-514
- Casañal Seoane Ana** (2014). The Fra Allergens and their Role in the Control of Flavonoid Biosynthesis in Strawberry Plants. Tesis Doctoral Universidad de Málaga, Málaga
- Chang C, Kwok SF, Bleckeer AB, Meyerowitz EM** (1993). Arabidopsis ethylene-response gene ETR1: similarity of product to two component regulators *Science* **262**(5133):539-44
- Chapman EJ, Estelle M** (2009). Mechanism of auxin-regulated gene expression in plants. *Annu Rev Genet* **43**: 265–285
- Cheng C, Jiao C, Singer SD, Gao M, Xu X, Zhou Y, Li Z, Fei Z, Wang Y, Wang X** (2015). Gibberellin-induced changes in the transcriptome of grapevine (*Vitis labrusca* × *V. vinifera*) cv. Kyoho flowers. *BMC Genomics* **16**: 128
- Cheng Y, Zhao Y** (2007). A role for auxin in flower development. *Journal of integrative plant biology*. **49** (1): 99-104
- Collinge DB, Kragh KM, Mikkelsen JD, Nielsen KK, Rasmussen U, Vad K** (1993). Plant chitinases. *Plant J* **3**: 31–40
- Concha CM, Figueroa NE, Poblete LA, Oñate FA, Schwab W, Figueroa CR** (2013). Methyl jasmonate treatment induces changes in fruit ripening by modifying the expression of several ripening genes in *Fragaria chiloensis* fruit. *Plant Physiol Biochem* **70**: 433–44

- Correa de Adjounian MF, Adjounian H, Adjounian SH** (2007). Silenciamiento de genes mediante RNA interferencia. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica **27**: 22-26
- Csukasi, F.** (2010). Control del crecimiento y maduración de frutos de fresa (*Fragaria ×ananassa*) por las hormonas auxina y giberelina. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga, Málaga
- Csukasi F, Osorio S, Gutierrez J, Kitamura J, Giavalisco P, Nakajima M, Fernie A, Rathjen J, Botella M, Valpuesta V** (2011) Gibberellin biosynthesis and signalling during development of the strawberry receptacle. New Phytol **191**: 376–390
- Daminato M, Guzzo F** (2013). A SHATTERPROOF-like gene controls ripening in non-climacteric strawberries, and auxin and abscissic acid antagonistically affect its expression. Journal of experimental Botany **64 (12)**: 3775-3786
- De Jong M, Wolters-Arts M, Feron R, Mariani C, Vriezen WH** (2009). The *Solanum lycopersicum* auxin response factor 7 (SIARF7) regulates auxin signaling during tomato fruit set and development. Plant J **57**: 160–70
- de la Fuente J, Amaya I, Castillejo C, Sánchez-Sevilla JF, Quesada MA, Botella MA, Valpuesta V** (2006). The strawberry gene *FaGAST* affects plant growth through inhibition of cell elongation. J Exp Bot **57**: 2401- 2411
- Dereeper A, Audic S, Claverie J-MM, Blanc G** (2010). BLAST-EXPLORER helps you building datasets for phylogenetic analysis. BMC Evol Biol **10**: 8
- Dharmasiri N, Dharmasiri S, Weijers D, Lencher E, Yamada M, Hobbie L, Ehrismann JS, Jürgens G, Estelle M** (2005). Plant development is regulated by a family of auxin receptor F box proteins. Developmental Cell **9**: 109-119
- El Mansouri Iman, Mercado José A., Valpuesta Victoriano, López-Aranda José M., Pliego-Alfaro Fernando, Quesada Miguel A** (1996). Shoot regeneration and *Agrobacterium* -mediated transformation of *Fragaria vesca*L. Plant Cell Reports **15**: 642-646
- Fan X, Mattheis JP, Fellman JK, Patterson ME** (1997). Effect of methyl jasmonate on ethylene and volatile production by summered apples depends on fruit developmental stage. Journal of Agricultural and Food Chemistry **45**: 208–211
- Ferreira e Silva GF, Silva EM, Azevedo M da S, Guivin MA, Ramiro DA, Figueiredo CR, Carrer H, Peres LE, Nogueira FT** (2014). microRNA156-targeted SPL/SBP box transcription factors regulate tomato ovary and fruit development. Plant J **78**: 604–18
- Finkelstein RR, Gampala SS, Rock CD** (2002). Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. Plant Cell (Suppl) **14**: S15–S45

- Franc V, Sebela M, Rehulka P, Končítíková R, Lenobel R, Madzak C, Kopečný D** (2012). Analysis of N-glycosylation in maize cytokinin oxidase/dehydrogenase 1 using a manual microgradient chromatographic separation coupled offline to MALDI-TOF/TOF mass spectrometry. *J Proteomics* **75**: 4027–37
- Gagne JM, Smalle J, Gingerich DJ, Walker JM, Yoo S-DD, Yanagisawa S, Vierstra RD** (2004). Arabidopsis EIN3-binding F-box 1 and 2 form ubiquitin-protein ligases that repress ethylene action and promote growth by directing EIN3 degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**: 6803–8
- Gambino G, Perrone I, Gribaudo I** (2008). A rapid and effective method for RNA extraction from different tissues of grapevine and other woody plants. *Phytochemical Analysis* **19**: 520-52
- Gallavotti A, Barazesh S, Malcomber S, Hall D, Jackson D, Schmidt RJ, McSteen P** (2008) *spare in* encodes a monocot-specific YUCCA-like gene required for vegetative and reproductive development in maize. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**: 15196–15201
- Gao Y, Zhang Y, Zhang D, Dai X, Estelle M, Zhao Y** (2015). Auxin binding protein 1 (ABP1) is not required for either auxin signaling or Arabidopsis development. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **112**: 2275–2280.
- Gapper NE, McQuinn RP, Giovannoni JJ** (2013). Molecular and genetic regulation of fruit ripening. *Plant Mol Biol* **82**: 575–91
- Giampieri F, Forbes-Hernandez TY, Gasparrini M, Alvarez-Suarez JM, Afrin S, Bompadre S, Quiles JL, Mezzetti B, Battino M** (2015) Strawberry as a health promoter: an evidence based review. *Food Funct.* **6**: 1386–1398
- Giampieri F, Tulipani S, Alvarez-Suarez J, Quiles J, Mezzetti B, Battino M** (2012) The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition* **28**: 9–19
- Giovannoni J** (2001). Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **52**: 725–749
- Giovannoni JJ** (2004). Genetic regulation of fruit development and ripening. *Plant Cell* **16**: S170–80
- Gou J-YY, Felippes FF, Liu C-JJ, Weigel D, Wang J-WW** (2011). Negative regulation of anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis by a miR156-targeted SPL transcription factor. *Plant Cell* **23**: 1512–22
- Gray WM, Kepinski S, Rouse D, Leyser O, Estelle M** (2001). Auxin regulates SCF(TIR1)-dependent degradation of AUX/IAA proteins. *Nature* **414**: 271–6

- Greenham K, Santner A, Castillejo C, Mooney S, Sairanen I, Ljung K, Estelle M** (2011) The AFB4 auxin receptor is a negative regulator of auxin signaling in seedlings. *Curr Biol*, **21**:520-525.
- Grones P, Chen X, Simon S, Kaufmann WA, De Rycke R, Nodzyński T, Zažímalová E, Friml J** (2015). Auxin-binding pocket of ABP1 is crucial for its gain-of-function cellular and developmental roles. *J Exp Bot.* : 2-11 doi: 10.1093/jxb/erv177
- Guilfoyle T, Hagen G** (2007). Auxin response factors. *Curr Opin Plant Biol* **10**: 453–60
- Guilfoyle TJ, Hagen G** (2012). Getting a grasp on domain III/IV responsible for Auxin Response Factor-IAA protein interactions. *Plant Sci* **190**: 82–8
- Guilfoyle T** (2015). The PB1 Domain in Auxin Response Factor and Aux/IAA Proteins: A Versatile Protein Interaction Module in the Auxin Response. *Plant Cell* **27**: 33–43
- Guo H, Ecker JR** (2003). Plant responses to ethylene gas are mediated by SCF(EBF1/EBF2)-dependent proteolysis of EIN3 transcription factor. *Cell* **115**: 667–77
- Guttridge CG, Thompson PA** (1964). The Effect of Gibberellins on Growth and Flowering of *Fragaria* and *Duchesnea*. *Journal of Experimental Botany* **15**: 631-646
- Hall SA, Allen RL, Baumber RE** (2009). Maintenance of genetic variation in plants and pathogens involves complex networks of gene-for-gene interactions. *Molecular Plant Pathology* **14** (4): 449-457
- Hancock J** (2000). Strawberries. *Strawberries crop production science in horticulture*. CABI Publishing, Wallingford, UK, 50-65 pp.
- Hancock JF** (1999) *Strawberries crop production science in horticulture*. CABI Publishing, Wallingford, UK,. 47-95 pp.
- Harpster MH, Brummell DA, Dunsmir P** (1998). Expression Analysis for a ripening-specific, auxin-repressed endo-1,4-beta-glucanase gene in strawberry. *Plant Physiol* **118**: 1307-1316
- Hayashi K** (2012). The interaction and integration of auxin signaling components. *Plant Cell Physiol* **53**: 965–75
- Hedden P, Phillips A L** (2000). Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends Plant Sci.* **5**:523–30
- He W, Brumos J, Li H, Ji Y, Ke M, Gong X, Zeng Q, Li W, Zhang X, An F, Wen X, Li P, Chu J, Sun X, Yan C, Yan N, Xie DY, Raikhel N, Yang Z, Stepanova A, Alonso J M** (2011). A Small-Molecule Screen Identifies I-Kynurenine as a

- Competitive Inhibitor of TAA1/TAR Activity in Ethylene-Directed Auxin Biosynthesis and Root Growth in Arabidopsis. *The Plant Cell* **23**: 3944–3960
- Himmelbach A, Yang Y, Grill E** (2003). Relay and control of abscisic acid signaling. *Curr Opin Plant Biol* **6**: 470–479
- Hirayama T, Shinozaki K** (2007). Perception and transduction of abscisic acid signals: keys to the function of the versatile plant hormone ABA. *Trends Plant Sci* **12**: 343–351
- Hoffmann T, Kalinowski G, Schwab W** (2006) RNAi-induced silencing of gene expression in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*) by agroinfiltration: a rapid assay for gene function analysis. *Plant J* **48**: 818–26
- Hua J, Chang C, Sun Q, Meyerowitz E M** (1995). Ethylene insensitivity conferred by Arabidopsis ERS gene. *Science* **269**: 1712-1714
- Hua J, Meyerowitz EM** (1998). Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in Arabidopsis thaliana. *Cell* **94**: 261–7
- Hummer KE, Nathewet P, Yanagi T** (2009) Decaploidy in *Fragaria iturupensis* (Rosaceae). *Am J Bot* **96**: 713–6
- Iannetta P, Laarhoven L, Medina-Escobar N, James E, McManus M, Davies H, Harren F** (2006). Ethylene and carbon dioxide production by developing strawberries show a correlative pattern that is indicative of ripening climacteric fruit. *Physiol Plant* **127**: 247–259
- Jaakola L, Poole M, Jones MO, Kämäräinen-Karppinen T, Koskimäki JJ, Hohtola A, Häggman H, Fraser PD, Manning K, King GJ, et al** (2010). A SQUAMOSA MADS box gene involved in the regulation of anthocyanin accumulation in bilberry fruits. *Plant Physiol* **153**: 1619–29
- Jia H, Chai Y, Li C, Lu D, Luo J, Qin L, Shen Y** (2011). Abscisic Acid Plays an Important Role in the Regulation of Strawberry Fruit Ripening. *Plant Physiology* **157**: 188-199
- Jiménez Bermúdez Lara S** (2005). Modificación de la textura del fruto de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch) mediante transformación con los genes de Pectato liasa, Celulasa o Poligalacturonasa en antisentido. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga, Málaga
- Jurado S, Abraham Z, Manzano C, López-Torrejón G, Pacios LF, Del Pozo JC** (2010). The Arabidopsis cell cycle F-box protein SKP2A binds to auxin. *Plant Cell* **22**: 3891–904
- Khan AA, Shih DS** (2004). Molecular cloning, characterization, and expression analysis of two class II chitinase genes from the strawberry plant. *Plant Science*. **166**: 753-762

- Khan A A** (2002). Characterization of chitinase activities, and cloning, analysis, and expression of genes encoding pathogenesis related proteins in strawberry. PhD Thesis Department of Biological Sciences Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana.
- Khan A A, Wu J and Shih D S** (1999). Cloning and sequence analysis of a class III chitinase gene (accession no. AF134347) from *Fragaria × ananassa* Duch. *Plant Physiol.* **120**: 340.
- Kang C, Darwish O, Geretz A, Shahan R, Alkharouf N, Liu Z** (2013). Genome-scale transcriptomic insights into early-stage fruit development in woodland strawberry *Fragaria vesca*. *Plant Cell* **25**: 1960–78
- Kieber JJ, Schaller GE** (2014). Cytokinins. *Arabidopsis Book* **12**: e0168
- Kieffer M, Neve J, Kepinski S** (2010). Defining auxin response contexts in plant development. *Curr Opin Plant Biol* **13**: 12–20
- Klee H, Giovannoni J** (2011). Genetics and Control of Tomato Fruit Ripening and Quality Attributes. *Annu Rev Genet* **45**: 41–59
- Kobashi K, Gemma H, Iwahori S** (1999). Sugar accumulation in peach fruit as affected by abscisic acid treatment in relation to some sugar metabolizing enzymes. *J Jpn Soc Hortic Sci* **68**: 465–470
- Koshiba T, Mito N, and Miyakado M** (1993). L-tryptophan and D-tryptophan aminotransferases from maize coleoptiles. *J. Plant Res.* **106**: 25–29
- Kudo T, Makita N, Kojima M, Tokunaga H, Sakakibara H** (2012). Cytokinin activity of cis-zeatin and phenotypic alterations induced by overexpression of putative cis-Zeatin-O-glucosyltransferase in rice. *Plant Physiol* **160**: 319–31
- Lau S, Jürgens G, Smet I** (2008). The Evolving Complexity of the Auxin Pathway. *Plant Cell* **20**: 1738–1746
- LeClere S, Schmelz EA, Chourey PS** (2010). Sugar levels regulate tryptophan-dependent auxin biosynthesis in developing maize kernels. *Plant Physiol* **153**: 306–318
- Lee S-HH, Li C-WW, Koh KW, Chuang H-YY, Chen Y-RR, Lin C-SS, Chan M-TT** (2014). MSR7 reverses oxidation of GSTF2/3 to confer tolerance of *Arabidopsis thaliana* to oxidative stress. *J Exp Bot* **65**: 5049–62
- Lehmann T, Hoffmann M, Hentrich M, Pollmann S** (2010). Indole-3-acetamide-dependent auxin biosynthesis: a widely distributed way of indole-3-acetic acid production? *Eur J Cell Biol* **89**: 895–905
- Leung J, Giraudat J** (1998) Abscisic acid signal transduction. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **49**: 199–222

- Lewis DR, Negi S, Sukumar P, Muday GK** (2011). Ethylene inhibits lateral root development, increases IAA transport and expression of PIN3 and PIN7 auxin efflux carriers. *Development*. **138**: 3485-3495
- Li K, Kamiya T, Fujiwara T** (2015). Differential Roles of PIN1 and PIN2 in Root Meristem Maintenance Under Low-B Conditions in *Arabidopsis thaliana*.
- Liu R, Chen S, Jiang J, Zhu L, Zheng C, Han S** (2013). Proteomic changes in the base of chrysanthemum cuttings during adventitious root formation. *BMC Genomics* **14**:919
- Livak KJ, Schmittgen TD** (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method. *Methods* **25**: 402-408
- Lopez A, Portales R, Ráez J, Escobar N, Blanco J, Franco A** (2006). Characterization of a strawberry late expressed and fruit specific peptide methionine sulphoxide reductase. *Physiologia Plantarum* **126**: 129–139
- López, Aranda:** (2008). La fresa de Huelva. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Viceconsejería. Servicio de Publicaciones y Divulgación. 105-120 pp.
- Lozano-Durán R, Zipfel C** (2015). Trade-off between growth and immunity: role of brassinosteroids. *Trends in plant science*. **20 (1)**: 12-19
- Lu M, Sun Q-PP, Zhang D-FF, Wang T-YY, Pan J-BB** (2015). Identification of 7 stress-related NAC transcription factor members in maize (*Zea mays* L.) and characterization of the expression pattern of these genes. *Biochem Biophys Res Commun* **462**: 144–50
- Manning K** (1991). Isolation of nucleic acids from plants by differential solvent precipitation. *Analytical biochemistry* **195**: 45-50
- Manning K.** (1994). Changes in gene expression during strawberry fruit ripening and their regulation by auxin. *Planta* **194**: 62–68.
- Manning K, Tör M, Poole M, Hong Y , Thompson AJ, King GJ, Giovannoni JJ, Seymour GB** (2006). A naturally occurring epigenetic mutation in a gene encoding an SBP-box transcription factor inhibits tomato fruit ripening. *Nat Genet* **38**:948–952
- Martínez GA, Chaves AR, Añón M C** (1996). Effect of exogenous application of gibberellic acid on color change and phenylalanine ammonia-lyase, chlorophyllase, and peroxidase activities during ripening of strawberry fruit (*Fragaria x ananassa duch.*). *Journal of Plant Growth Regulation* **15**: 139–146.
- Mashiguchi Kiyoshi, K. T., Sakai Tatsuya, Sugawara Satoko, Kawaide Hiroshi Natsume Masahiro, Hanada Atsushi, Yaeno Takashi, Ken Shirasu, Hong Yao, Paula McSteen , Yunde Zhao, Ken -ichiro Hayashi, Yiji Kamiya,**

- Hiroyuki Kashara** (2011). The main auxin biosynthesis pathway in *Arabidopsis*. *Plant Biology PNA* **108 (45)**: 18512-18517
- Medina-Escobar N, Cárdenas J, Valpuesta V, Muñoz-Blanco J, Caballero JL** (1997). Cloning and characterization of cDNAs from genes differentially expressed during the strawberry fruit ripening process by a MAST-PCR- SBDS method. *Anal Biochem* **248**: 288-296
- Medina-Puche L, Cumplido-Laso G** (2014). MYB10 plays a major role in the regulation of flavonoid/phenylpropanoid metabolism during ripening of *Fragaria x ananassa* fruits. *Journal of Experimental Botany* **65(2)**: 401-417
- Merchante C, Vallarino JG, Osorio S, Aragüez I, Villarreal N, Ariza MT, Martínez GA, Medina-Escobar N, Civello MP, Fernie AR, et al** (2013a). Ethylene is involved in strawberry fruit ripening in an organ-specific manner. *J Exp Bot* **64**: 4421–39
- Merchante C, Alonso JM, Stepanova AN** (2013b). Ethylene signaling: simple ligand, complex regulation. *Curr Opin Plant Biol* **16**: 554–60
- Mockaitis K, Estelle M** (2008). Auxin receptors and plant development: a new signaling paradigm. *Annual Review Cell and Develop Biol.* **24**: 55-80
- Montfort VRL, Slingsby C, and Vierling E** (2002). Structure and function of the small heat shock protein/alpha-crystallin family of molecular chaperones. *Adv. Protein Chem.* **59**: 105–156
- Montoya T, Nomura T, Yokota T, Farrar K** (2005). Patterns of Dwarf expression and brassinosteroid accumulation in tomato reveal the importance of brassinosteroid synthesis during fruit development. *The Plant Journal* **42**: 262-269
- Mortazavi A, Williams BA, McCue K, Schaeffer L** (2008). Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nature Methods* **5**: 621-628
- Muday GK, Rahman A, Binder BM** (2012). Auxin and ethylene: collaborators or competitors? *Trends Plant Sci* **17**: 181–95
- Müller M, Munné-Bosch S** (2015) Ethylene Response Factors (ERFs): A Key Regulatory Hub in Hormone and Stress Signaling. *Plant Physiol.* doi: 10.1104/pp.15.00677
- Muñoz C, Hoffmann T, Escobar NM, Ludemann F, Botella MA, Valpuesta V, Schwab W** (2010). The strawberry fruit Fra a allergen functions in flavonoid biosynthesis. *Mol Plant* **3**: 113–24
- Nafisi M, Goregaoker S, Botanga CJ, Glawischnig E, Olsen CE, Halkier BA, Glazebrook J** (2007). *Arabidopsis* cytochrome P450 monooxygenase 71A13

- catalyzes the conversion of indole-3-acetaldoxime in camalexin synthesis. *Plant Cell* **19**: 2039–2052
- Nitsch, J P** (1950). Growth and morphogenesis of the strawberry as related to auxin. *Am. J. Bot.* **37**: 211-215
- Nonhebel H, Yuan Y, Al-Amier H, Pieck M, Akor E, Ahamed A, Cohen JD, Celenza JL, Normanly J** (2011). Redirection of tryptophan metabolism in tobacco by ectopic expression of an *Arabidopsis* indolic glucosinolate biosynthetic gene. *Phytochemistry* **72**: 37–48
- Normanly J, Cohen JD, Fink GR** (1993). *Arabidopsis thaliana* auxotrophs reveal a tryptophan-independent biosynthetic pathway for indole-3-acetic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**: 10355–10359
- Osorio S, Castillejo C, Quesada MA** (2008). Partial demethylation of oligogalacturonides by pectin methyl esterase 1 is required for eliciting defence responses in wild strawberry (*Fragaria vesca*). *The Plant Journal* **54**: 43-55
- Osorio S, Scossa F, Fernie AR** (2013). Molecular regulation of fruit ripening. *Front Plant Sci* **4**: 198
- Ottensschläger I, Wolff P, Wolverton C, Bhalerao RP, Sandberg G, Ishikawa H, Evans M, Palme K** (2003). Gravity-regulated differential auxin transport from columella to lateral root cap cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**: 2987–91
- Ouyang J, Shao X, Li J** (2000). Indole-3-glycerol phosphate, a branchpoint of indole-3-acetic acid biosynthesis from the tryptophan biosynthetic pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* **24**(3):327–333
- Pan QH, Li MJ, Peng CC, Zhang N, Zou X, Zou KQ, Wang XL, Yu XC, Wang XF, Zhang DP** (2005) Abscisic acid activates acid invertases in developing grape berry. *Physiol Plant* **125**: 157–170
- Parry G, Calderon-Villalobos LI, Prigge M, Peret B, Dharmasiri S, Itoh H, Lechner E, Gray WM, Bennett M, Estelle M** (2009). Complex regulation of the TIR1/AFB family of auxin receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**: 22540–5
- Pattison RJ, Csukasi F, Catalá C** (2014). Mechanisms regulating auxin action during fruit development. *Physiol Plant* **151**: 62–72
- Pedraza R, Ramírez-Mata A, Xiqui ML, Baca B** (2004). Aromatic amino acid aminotransferase activity and indole-3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bacteria. *FEMS Microbiol Lett* **233**: 15–21
- Peer WA** (2013). From perception to attenuation: auxin signalling and responses. *Curr Opin Plant Biol* **16**: 561–8

- Penarrubia L, Andres-Colas N, Moreno J, Puig S.** (2009). Regulation of copper transport in *Arabidopsis thaliana*: a biochemical oscillator? *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* **15**: 29–36
- Pereira-Netto AB** (2007). Genes involved in brassinosteroids's metabolism and signal transduction pathways. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. **50 (4)**: 605-618
- Perkins-Veazie P** (1995). Growth and ripening of strawberry fruit. *Horticulture Review* **17**: 267-297
- Pfaffl MW (2001)** A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* **29**
- Pollmann S, Neu D, Weiler EW** (2003). Molecular cloning and characterization of an amidase from *Arabidopsis thaliana* capable of converting indole-3-acetamide into the plant growth hormone, indole-3-acetic acid. *Phytochemistry* **62**: 293–300
- Potuschak T, Lechner E, Parmentier Y, Yanagisawa S, Grava S, Koncz C, Genschik P** (2003). EIN3-dependent regulation of plant ethylene hormone signaling by two *Arabidopsis* F box proteins: EBF1 and EBF2. *Cell* **115**: 679–89
- Preuß A, Augustin C, Figueroa CR, Hoffmann T, Valpuesta V, Sevilla JFF, Schwab W** (2014). Expression of a functional jasmonic acid carboxyl methyltransferase is negatively correlated with strawberry fruit development. *J Plant Physiol* **171**: 1315–24
- Qiao H, Chang KN, Yazaki J, Ecker JR** (2009). Interplay between ethylene, ETP1/ETP2 F-box proteins, and degradation of EIN2 triggers ethylene responses in *Arabidopsis*. *Genes Dev* **23**: 512–2
- R Benatti M, Yookongkaew N, Meetam M, Guo W-JJ, Punyasuk N, AbuQamar S, Goldsbrough P** (2014). Metallothionein deficiency impacts copper accumulation and redistribution in leaves and seeds of *Arabidopsis*. *New Phytol* **202**: 940–51
- Richings EW, Cripps RF, Cowan AK** (2000). Factors affecting 'Hass' avocado fruit size: carbohydrate, abscisic acid and sopenoid metabolism in normal and phenotypically small fruit. *Physiol Plant* **109**: 81–89
- Robert HS, Grones P, Stepanova AN, Robles LM, Lokerse AS, Alonso JM, Weijers D, Friml J** (2013). Local auxin sources orient the apical-basal axis in *Arabidopsis* embryos. *Curr Biol* **23**: 2506–12
- Robles L, Stepanova A, Alonso J** (2013). Molecular mechanisms of ethylene-auxin interaction. *Mol Plant* **6**: 1734–7

- Rodrigo MJ, Alquezar B, Zacarías L** (2006). Cloning and characterization of two 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase genes, differentially regulated during fruit maturation and under stress conditions, from orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *J Exp Bot* **57**: 633–643
- Rottmann WH, Peter GF, Oeller PW, Keller JA, Shen NF, Nagy BP, Taylor LP, Campbell AD, Theologis A** (1991). 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in tomato is encoded by a multigene family whose transcription is induced during fruit and floral senescence. *J Mol Biol* **222**: 937–61
- Rousseau-Gueutin M, Gaston A, Aïnouche A, Aïnouche ML, Olbricht K, Staudt G, Richard L, Denoyes-Rothan B** (2009). Tracking the evolutionary history of polyploidy in *Fragaria* L. (strawberry): new insights from phylogenetic analyses of low-copy nuclear genes. *Mol Phylogenet Evol* **51**: 515–30
- Rudell DR, Mattheis JP, Fan X** (2002). Methyl Jasmonate Enhances Anthocyanin Accumulation and Modifies Production of Phenolics and Pigments in Fuji Apples. *Journal of the American Soc. Hort. Sci.* **127(3)**: 435-441
- Sade D, Sade N, Shriki O, Lerner S, Gebremedhin A, Karavani A, Brotman Y, Osorio S, Fernie A, Willmitzer L, et al** (2014). Water Balance, Hormone Homeostasis, and Sugar Signaling Are All Involved in Tomato Resistance to Tomato Yellow Leaf Curl Virus. *PLANT PHYSIOLOGY* **165**: 1684–1697.
- Sakai H, Hua J, Chen QG, Chang C, Medrano LJ, Bleecker AB, Meyerowitz EM** (1998). ETR2 is an ETR1-like gene involved in ethylene signaling in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**: 5812–7
- Salehin M, Bagchi R, Estelle M** (2015) SCFTIR1/AFB-based auxin perception: mechanism and role in plant growth and development. *Plant Cell* **27**: 9–19
- Salvatierra A, Pimentel P, Moya-Leon MA, Caligari PDS, Herrera R.** (2010). Comparison of transcriptional profiles of flavonoid genes and anthocyanin contents during fruit development of two botanical forms of *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*. *Phytochemistry* **71**: 1839–1847
- Sánchez-Sevilla JF, Cruz-Rus E, Valpuesta V, Botella MA, Amaya I** (2014). Deciphering gamma-decalactone biosynthesis in strawberry fruit using a combination of genetic mapping, RNA-Seq and eQTL analyses. *BMC Genomics* **15**: 218
- Sánchez-Sevilla JF, Valpuesta Victoriano (sin publicar)**
- Sastry K K, Muir R M** (1963). Gibberellin: Effect on Diffusible Auxin in Fruit Development. *Science* **140**: 494-495
- Schaart JG, Dubos C, Romero-de la Fuente I, van Houwelingen AMML, de Vos RCH, Jonker HH, Xu W, Routaboul J-M, Lepiniec L, Bovy AG** (2013).

- Identification and characterization of MYB-bHLH-WD40 regulatory complexes controlling proanthocyanidin biosynthesis in strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruits. *New Phytologist* **197**: 454–467.
- Seeram NP** (2008). Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *J Agric Food Chem* **56**: 627-629
- Seymour GB, Ryder CD, Cevik V, Hammond JP, Popovich A, King GJ, Vrebalov J, Giovannoni JJ, Manning K** (2011). A SEPALLATA gene is involved in the development and ripening of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruit, a non-climacteric tissue. *J Exp Bot* **62**: 1179–88
- Symons GM, Davies C, Shavrukov Y, Dry IB** (2006). Grapes on steroids. Brassinosteroids are involved in grape berry ripening. *Plant Physiology* **140**: 150-158
- Symons GM, Chua Y-JJ, Ross JJ, Quittenden LJ, Davies NW, Reid JB** (2012). Hormonal changes during non-climacteric ripening in strawberry. *J Exp Bot* **63**: 4741–50
- Seymour GB, Østergaard L, Chapman NH, Knapp S, Martin C** (2013) Fruit development and ripening. *Annu Rev Plant Biol* **64**: 219–41
- Shan X, Yan J, Xie D** (2012). Comparison of phytohormone signaling mechanisms. *Curr Opin Plant Biol.* **15**:84–91.
- Shulaev V, Korban SS, Sosinski B, Abbot AG, Aldwinkle HS, Folta KM, Lezzoni A, Main D, Arús P, Dandekar AM, Lewers K et al** (2008). Multiple models for rosacear genomics. *Plant Physiol* **147**: 985-1003
- Shulaev V, Sargent DJ, Crowhurst RN, Mockler TC, Folkerts O, Delcher AL, Jaiswal P, Mockaitis K, Liston A, Mane SP, et al** (2011). The genome of woodland strawberry (*Fragaria vesca*). *Nat Genet* **43**: 109–16
- Singh JP, Randhawa GS, Jain NLR** (1960). Response strawberry to gibberelic acid. *Indian J. Hort* **17**: 21-30
- Smolka A, Welander M, Olsson P, Holfors A, Zhu LH** (2009). Involvement of the ARRO-1 gene in adventitious root formation in apple. *Plant science.* **177**: 710-715
- Spolaore S, Trainotti L** (2001). A simple protocol for transient gene expression in ripe fleshy fruit mediated by *Agrobacterium*. *Journal of experimental Botany* **52**: 845-850
- Stepanova AN, Robertson-Hoyt J, Yun J, Benavente L M, Xie D Y, Dolezal K, Schlereth A, Jürgens G, and Alonso J M** (2008). TAA1-mediated auxin

- biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Cell* **133**:177–191.
- Stepanova AN, Yun J, Robles LM, Novak O, He W, Guo H, Ljung K, Alonso JM** (2011). The Arabidopsis YUCCA1 flavin monooxygenase functions in the indole-3-pyruvic acid branch of auxin biosynthesis. *Plant Cell* **23**: 3961–73
- Su T, Xu J, Li Y, Lei L, Zhao L, Yang H, Feng J, Liu G, Ren D** (2011). Glutathione-indole-3-acetonitrile is required for camalexin biosynthesis in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell* **23**: 364–380
- Sugawara S, Hishiyama S, Jikumaru Y, Hanada A, Nishimura T, Koshiba T, Zhao Y, Kamiya Y, Kasahara H** (2009). Biochemical analyses of indole-3-acetaldoxime-dependent auxin biosynthesis in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* **106**: 5430–5
- Sun L, Zhang M, Ren J, Qi J, Zhang G** (2010). Reciprocity between abscisic acid and ethylene at the onset of berry ripening and after harvest. *BMC Plant Biology* **10**: 257
- Sun S, Yu JP, Chen F, Zhao TJ, Fang XH, Li YQ** (2008). TINY, a dehydration-responsive element (DRE)-binding protein-like transcription factor connecting the DRE-and ethylene-responsive element-mediated signaling. *The Journal of Biomedical Chemistry*. **283** (10): 6261–6271
- Swain SM, Singh DP** (2005). Tall tales from sly dwarves: novel functions of gibberellins in plant development. *Trends Plant Sci* **10**: 123–9
- Symons GM, Chua Y-JJ, Ross JJ, Quittenden LJ, Davies NW, Reid JB** (2012). Hormonal changes during non-climacteric ripening in strawberry. *J Exp Bot* **63**: 4741–50
- Tan X, Calderon-Villalobos LI, Sharon M, Zheng C, Robinson CV, Estelle M, Zheng N** (2007). Mechanism of auxin perception by the TIR1ubiquitin ligase. *Nature*, **446**:640-645.
- Tao Y, Ferrer JL, Ljung K, Pojer F, Hong F, Long JA, Li L, Moreno JE, Bowman ME, Ivans LJ, Cheng Y, Lim J, Zhao Y, Ballaré CL, Sandberg G, Joel JP, Chory J** (2008). Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell* **133**:164–176
- Teale, W.D., Paponov, I.A., and Palme, K.** (2006). Auxin in action: signaling, transport and control of plant growth and development, *Nat. Rev Mol Cell Biol* **7**:847-859
- Tenessen JA, Govindarajulu R, Ashman T-LL, Liston A** (2014). Evolutionary origins and dynamics of octoploid strawberry subgenomes revealed by dense targeted capture linkage maps. *Genome Biol Evol* **6**: 3295–313

- Thimm O, Bläsing O, Gibon Y, Nagel A, Meyer S, Krüger P, Selbig J, Müller L, Rhee S, Stitt M** (2004). Mapman: a user-driven tool to display genomics data sets onto diagrams of metabolic pathways and other biological processes. *Plant J* **37**: 914–939
- Tieman D M, Taylor M G , Ciardi J A, Klee H J** (2000). The tomato ethylene receptors NR and LeETR4 are negative regulators of ethylene response and exhibit functional compensation within a multigene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97** : 5663–5668.
- Tivendale ND, Davidson SE, Davies NW, Smith JA, Dalmais M, Bendahmane AI, Quittenden LJ, Sutton L, Bala RK, Le Signor C, et al** (2012). Biosynthesis of the halogenated auxin, 4-chloroindole-3-acetic acid. *Plant Physiol* **159**: 1055–63
- Tivendale ND, Ross JJ, Cohen JD** (2014). The shifting paradigms of auxin biosynthesis. *Trends Plant Sci* **19**: 44–51
- Tiwari SB, Wang XJ, Hagen G, Guilfoyle TJ**(2001). AUX/IAA proteins are active repressors, and their stability and activity are modulated by auxin. *Plant Cell* **13**: 2809–22
- Tiwari SB, Hagen G, Guilfoyle T** (2003). The roles of auxin response factor domains in auxin-responsive transcription. *Plant Cell* **15**: 533–43
- Thornton TM, Swain SM, Olszewski NE** (1999). Gibberellin signal transduction presents ellipsis the SPY who O-GlcNAc'd me . *Trends Plant Sci.* **4**:424–8
- Trainotti L, Pavanello A, Casadoro G** (2005). Different ethylene receptors show an increased expression during the ripening of strawberries: does such an increment imply a role for ethylene in the ripening of these non-climacteric fruits? *Journal of Experimental Botany* **56**: 2037–2046
- Tsuchisaka A, Theologis A** (2004). Unique and overlapping expression patterns among the Arabidopsis 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase gene family members. *Plant Physiology.* **136**: 2982-3000
- Ulmasov T, Hagen G, Guilfoyle T** (1997). ARF1, a Transcription Factor That Binds to Auxin Response Elements. *Science* **276**: 1865-1868
- Ulmasov T, Liu Z-B, Hagen G, Guilfoyle T** (1995) Composite Structure of Auxin Response Elements. *The Plant Cell* **7**: 1611
- Vallarino JG, Osorio S, Bombarely A, Casañal A, Cruz-Rus E, Sánchez-Sevilla JF, Amaya I, Gialalisco P, Fernie AR, Botella MA, Valpuesta V** (2015) Central role of FaGAMYB in the transition of the strawberry receptacle from development to ripening. *New Phytol.* 1-15

- Vandenbussche F, Petráše J, Žádníková P** (2010). The auxin influx carriers AUX1 and LAX3 are involved in auxin-ethylene interactions during apical hook development in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Development* **137**: 597-606
- Wang B, Chu J, Yu T, Xu Q, Sun X, Yuan J, Xiong G, Wang G, Wang Y, Li J** (2015). Tryptophan-independent auxin biosynthesis contributes to early embryogenesis in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**: 4821–6
- Wang C-JJ, Chan Y-LL, Shien CH, Yeh K-WW**(2015). Molecular characterization of fruit-specific class III peroxidase genes in tomato (*Solanum lycopersicum*). *J Plant Physiol* **177**: 83–92
- Wang W, Vinocur B, Shoseyov O, Altman A** (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science*. **9** (5): 245-252
- Wang X, Du J, Yao X** (2015). Structural and dynamic basis of acid amido synthetase GH3.1: an investigation of substrate selectivity and major active site access channels. *Mol Biosyst* **11**: 809–18
- Watanabe T, Kanai R, Kawase T, Tanabe T, Mitsutomi M, Sakuda S, Miyashita K** (1999). Family 19 chitinases of *Streptomyces* species: characterization and distribution. *Microbiology* **145**: 3353–3363
- Waters ER, Nguyen SL, Eskandar R, Behan J, Sanders-Reed Z** (2008). The recent evolution of a pseudogene: diversity and divergence of a mitochondria-localized small heat shock protein in *Arabidopsis thaliana*. *Genome* **51**: 177–86
- Williamson C E** (1950). Ethylene, a metabolic product of diseased or injured plants *Pythopathology*. **40** (2): 205-208.
- Woodhead Mary, Davies HV, Brennan RM, Taylor MA** (1998). The isolation of genomic DNA from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.). *Molecular biotechnology*. **9**: 243-246
- Won C, Shen X, Mashiguchi K, Zheng Z, Dai X, Cheng Y, Kasahara H, Kamiya Y, Chory J, Zhao Y** (2011). Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASES OF ARABIDOPSIS and YUCCAs in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **108**: 18518–18523
- Wu J, Wang F, Cheng L, Kong F, Peng Z, Liu S, Yu X, Lu G** (2011). Identification, isolation and expression analysis of auxin response factor (ARF) genes in *Solanum lycopersicum*. *Plant Cell Rep* **30**: 2059–73
- Xu T, Dai N, Chen J, Nagawa S, Cao M, Li H, Zhou Z, Chen X, De Rycke R, Rakusová H, Wang W, Jones A M, Friml J, Patterson S E, Bleeker A B, Yang Z**, (2014). Cell surface ABP1-TMK auxin-sensing complex activates ROP GTPase signaling. *Science* **343**: 1025–1028.

- Xu Z, Sun L, Zhou Y, Yang W, Cheng T, Wang J, Zhang Q** (2015). Identification and expression analysis of the SQUAMOSA promoter-binding protein (SBP)-box gene family in *Prunus mume*. *Mol Genet Genomics*. doi: 10.1007/s00438-015-1029-3
- Yamada M, Greenham K, Prigge MJ, Jensen PJ, Estelle M** (2009). The TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE2 gene is required for auxin synthesis and diverse aspects of plant development. *Plant Physiol* **151**:168–179
- Yang C, Lu X, Ma B, Chen S-YY, Zhang J-SS** (2015). Ethylene Signaling in Rice and Arabidopsis: Conserved and Diverged Aspects. *Mol Plant* **8**: 495–505
- Yang R, Deng C, Ouyang B, Ye Z** (2011). Molecular analysis of two salt-responsive NAC-family genes and their expression analysis in tomato. *Molecular biology reports* **38**: 857-863
- Yeh SY, Huang FC, Hoffmann T** (2014). FaPOD27 functions in the metabolism of polyphenols in strawberry fruit (*Fragaria sp.*). *Frontiers in plant Science* 5(518): 1-18
- Yuan HM, Xu HH, Liu WC and Lu YT** (2013). Copper regulates primary root elongation through PIN1-mediated auxin redistribution. *Plant Cell Physiol*. **54**: 766–778
- Yoon-Sun Hur, Ki-Hye Shin, Sunghan Kim, Kyoung Hee Nam, Myeong-Sok Lee, Jong-Yoon Chun, Choong-III Cheon** (2009). *Molecules and Cells*. **27.2**: 217-223
- Žádníková P, Petrá ek J, Marhavý P, Raz V**(2010). Role of PIN-mediated auxin efflux in apical hook development of *Arabidopsis thaliana*. *Development* **137**: 607-617
- Zheng Z, Guo Y, Novák O, Dai X, Zhao Y, Ljung K, Noel J, Chory J** (2013). Coordination of auxin and ethylene biosynthesis by the aminotransferase VAS1. *Nat Chem Biol* **9**: 244–246
- Zhang M, Yuan B, Leng P** (2009b). The role of ABA in triggering ethylene biosynthesis and ripening of tomato fruit. *J Exp Bot* **60**: 1579–1588
- Zhao, Yunde** (2010). Auxin Biosynthesis and Its Role in Plant Development *Annu. Rev. Plant Biol.* 2010. **61**:49–64
- Zorrilla-Fontanesi Y, Rambla J-L, Cabeza A, Medina J, Sánchez-Sevilla J, Valpuesta V, Botella M, Granell A, Amaya I** (2012) Genetic analysis of strawberry fruit aroma and identification of O-methyltransferase FaOMT as the locus controlling natural variation in mesifurane content. *Plant Physiol*. **159**: 851-870

Summary

The strawberry is one of the most consumed berry worldwide. The organoleptic properties due to its characteristic aroma and flavor, make the strawberry fruit its privilege position for human consumption, not only in fresh and frozen forms, but also as processed and derived products, including yogurts, drinks, jams and jellies (Giampieri *et al.*, 2015). In 2013, the production of the strawberry reached about seven million of tons, being Spain the supplier to the European Union (<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>). Unlike other fruits that are the result of the ovary growth, the strawberry is the results of engrossment of the flower receptacle with the true fruits, named achenes, localized on the external surface. The achenes, originated in the base of each pistil, are a combination of seed and ovary tissues, whereas the receptacle develops from the base of the flower to form the fleshy part of the fruit. The receptacle is conected to the achenes by vascular bundles (Perkins-Veazie *et al.*, 1995; Hancock, 1999). Besides its agriculture importance, strawberry fruits have been one of the most utilized models in fisiological studies.

The strawberry belongs to the *Rosaceae* family and *Fragaria* genus. *Fragaria vesca* is known as the wooland strawberry and is diploid, with a basic complement of seven chromosomes, making it one model of the family *Rosaceae* species, along with peach and apple (Shulaev *et al.*, 2008). The cultivated strawberry *Fragaria* × *ananassa* is octoploid.

In the process of strawberry fruit ripening various cellular and biochemical changes occurs. When the receptacle matures, changes in texture, that are associated with the cell wall metabolism, and changes in metabolism, generally associated with the accumulation of sugars, acids, polyphenols, pigments and volatile compounds take place (Hancock, 2000; Gapper *et al.*, 2013). The development of the strawberry fruit is highly affected by variations in hormonal contents during growth and ripening. Studies performed by Nitsch in 1950, demonstrated that the growth of strawberry receptacle at early stages is regulated by the hormone auxin, indole-3-acetic acid (IAA), which is delivered from the achenes. The external application of auxin reestablished the growth of the previously deachened receptacles. It is known that auxin promotes several processes like organogenesis, cell division and elongation, as well as growth,

development and ripening of the fruits. However, the mechanisms by which auxin regulates these processes are not known in all cases (Teale *et al.*, 2006; Benjamin and Scheres, 2008; Pattison *et al.*, 2014).

Auxin perception mechanisms and signaling must be important in regulating the development and ripening of the strawberry (*F. × ananassa*) fruit. Although not yet fully understood in *Arabidopsis*, it has been proposed at least three tryptophan-dependent auxin biosynthetic interconnected routes, which take the names from the immediate intermediary after tryptophan (Trp) (Brumos *et al.*, 2014). These are indole-3-acetaldoxime (IAOx), indole-3-acetamide (IAM), and indole-3-pyruvic acid (IPA) routes (Mashiguchi *et al.*, 2011; Brumos *et al.*, 2014; Tivendale *et al.*, 2014). Recent studies have shown that most common pathway to obtained IAA in plants occurs in the IPA (indole-3-pyruvic acid) route (Mashiguchi *et al.*, 2011; Stepanova *et al.*, 2011; Won *et al.*, 2011). Through the study of mutants has been demonstrated that the protein tryptophan aminotransferase, TAA1 and the related proteins TAR1 and TAR2 (Tryptophan aminotransferases related 1 and 2) catalyze the reaction from tryptophan to IPA, playing an important role in auxin biosynthesis. Additionally, Mashiguchi *et al.*, probe that the flavin monooxygenases named *YUCCA* (*YUC*) family that are proteins involved in the conversion of IPA to IAA. They analyzed IPA levels in the seedlings of *yuc1 yuc2 yuc4 yuc6* quadruple mutants by HPLC (Mashiguchi *et al.*, 2011).

We know that auxin is involved in the regulation of all aspects of plant growth and development. In this work, we have intended to gain information on the role played by auxin in the development of the strawberry receptacle. On this purpose we have studied the genes involved in the IPA pathway of synthesis of auxin in ripening of strawberry fruits (*F. × ananassa*). The data that we present in this work, represent a further step in understanding the function of these auxin biosynthesis genes in the global process of strawberry fruit ripening.

Our first aim was to identify the family members and analyze the expression patterns of the genes involved in the biosynthesis of auxin by the IPA route, throughout fruit ripening, in both achenes and receptacle separately. To study these auxin biosynthesis genes of the IPA route, we made a bioinformatic search in the *F. vesca* genome (Shulaev *et al.*, 2011; Tennessen *et al.*, 2014) for the members of of the *TAA1/TAR* and *YUC* family. To design the primers we used the sequences *F. vesca*,

knowing that the overall homology between genes of these two species is around 93% (Bombarely *et al.*, 2010).

The study of the *YUCCA* genes was performed by analysis of their relative expression by qRT-PCR in achenes and receptacle of strawberry fruits, cv. Camarosa. The analysis was restricted to the *F. × ananassa* genes with the highest homology to *FvYUC2*, *FvYUC3*, *FvYUC4*, *FvYUC6* and *FvYUC7* genes of *Fragaria vesca*. The basis for this selection was the importance of the *Arabidopsis* mutants *yuc1*, *yuc2*, *yuc4* and *yuc6* in the embryogenesis, floral organogenesis and development of vascular tissue (Cheng *et al.*, 2007; Stepanova *et al.*, 2011). In general, the *YUCCA* genes presented higher expression in achenes than in receptacles, with the exception, of the gene *FaYUC7*, which shows its highest expression in red receptacle. In parallel, an in depth transcriptomic analysis by RNA-seq was made in our laboratory. Expression was analyzed at different stages of development, in receptacle and achene separately, at green, white, turning and red fruit stages, as well as in leaf and root. Reads were mapped in the *FvJH4* version of the *F. vesca* genome (Shulaev *et al.*, 2011) using the FastQC, Bowtie, TopHat, Cufflinks software, and final visualization by the IGV program. The expression values from the RNA-seq experiment were expressed as Fragments Per Kilobase of exon per Million mapped reads (FPKM). The expression values of the 13 genes involved in the IPA auxin biosynthesis pathway were analyzed, both the *TAA1/TAR* family as the *YUCCA* family. Overall, *TAA1/TAR* genes were expressed with values between 9 and 46 FPKM in achenes; in the receptacles, the values reached low levels, all of them below 15 FPKM. It was interesting to know that the gene *FaTAR2* in receptacle increased its expression from the green to the red stage, where it reached a maximum. The gene *FaTAR2* in receptacle was the member of the *TAA1/TAR* family with highest expression in receptacle. The expression levels in achenes and receptacle of the *YUCCA* genes was low in general, with the exception of *FaYUC10* and *FaYUC11*. In achenes, the most representative genes from this family were *FaYUC10* and *FaYUC11* that showed specific expression patterns, with *FaYUC10* reaching their peak at the green stage, and *FaYUC11* at the intermediate stage, in the receptacle these two genes, presented a decrease in their expression throughout the stages from green to red. The genes *FaYUC2* and *FaYUC7* showed comparable level of expression in achene and receptacle, but their expression in receptacle was higher at the late stages of development, intermediate and red, than at early stages, green and white. These data are consistent with studies of Kang *et al.*, (2013), which showed increased expression

in the achenes for *TAA1/TARs* and the *YUCCA* genes, confirming that the majority auxin biosynthesis occurs in the achenes. Our results are in agreement with the synthesis of auxin in the achene at early stages (Kang *et al.*, 2013). However, the expression data for these genes also point out to the possibility of auxin synthesis in the receptacle at late developmental stages.

The second aim of this part of the work was to determine the tryptophan aminotransferase activity of the protein encoded by the strawberry genes. Previous studies showed the aminotransferase activity of the *Arabidopsis AtTAA1* and *TAR1*, which catalyze the conversion of Trp to IPA in this species (Stepanova *et al.* 2008; He *et al.*, 2011). First we amplified the DNA fragment corresponding to the coding region of *FaTAA1* and *FaTAR2*, that was purified, ligated and cloned in the pENTR™/D-TOPO vector. One Gateway recombination was performed to clone in the *pDEST15* vector. This vector allows the production of recombinant native fusion proteins tagged with a Glutathione-S-transferase (GST) at the N-terminus. Subsequently, this plasmid was transformed into strain BL21 Star (DE3) pLysS from *Escherichia coli*. The protein expression and purification was performed with the BL21 bacteria transformed with plasmid *pDEST15-FaTAA1* and *pDEST15-FaTAR2*. The production of proteins was induced with Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG). The purification was performed based on the high affinity ligand of GST by glutathione, while impurities were removed with washes. This labeling of proteins allowed the elution under mild conditions, non-denaturing, preserving their structure and function of GST-tagged proteins. The purified proteins were separated using native PAGE and their Trp aminotransferase activity was assayed in gel as previously described (Pedraza *et al.*, 2004). There has not been success to produce the GST-FaTAR2 protein by this method, as previously reported for the *Arabidopsis* protein (He *et al.*, 2011). We have no explanation for this difficulty of production and purification of FaTAR2, but is probably related to differences in its primary structure relative to FaTAA1. The aminotransferase activity measurement was performed at different concentrations of the substrate (Trp). In the HPLC chromatograms peaks at 53 minutes, corresponds to the IPA in enol form, were observed. This compound can exist in two tautomeric forms. These forms are the keto and enol tautomers, and both can be identified on the HPLC chromatogram with a retention time of 32-33 minutes and 53 minutes, respectively. It is known that the enol form is the more stable of the two (Tivendale *et al.*, 2014). Thus, we have demonstrated the capacity of GST-FaTAA1 protein to convert tryptophan to indole-3-pyruvic acid, as analyzed by HPLC-MS method.

The third aim, was to support the action of auxin in the ripening of the receptacle of strawberry fruits. This was intended by performing a transient silencing by RNAi of the *FaTAA1* and *FaTAR2* genes in strawberry fruit. The silencing by RNAi is an effective approach to reveal the function of genes. This technique, used temporarily, has been tested previously in strawberry fruits (Hoffmann *et al.*, 2006; Muñoz *et al.*, 2012; Casañal, 2014; Vallarino *et al.*, 2015), and has the advantage of limiting temporally and spatially the silencing. In our case, this has been a suitable technique and tool, because our interest was focused on the development and ripening of the strawberry receptacle.

The transient silencing through ihpRNA (intron self complementary hairpin RNA encoding) is a technique optimized in strawberry fruits by Hoffman *et al.*, (2006). This technique allows silencing of genes specifically using small RNA molecules having self-complementary regions forming a hairpin, which is cleaved (by RNase enzymes) and processed by cytoplasmic enzymes (Dicer) producing small interfering double stranded RNA (siRNA) of 21-23 nucleotides. The antisense strand of these siRNA binds to the RNA messenger by base complementarity. The resulting complex is recognized by a RNase, which finally leads to its degradation preventing protein translation (Adjounian Belt *et al.*, 2007). This system, used in transient transformation (Hoffman *et al.*, 2006), allows the degradation of messenger RNA of interest in the receptacle of the strawberry fruits, providing an effective tool for analyzing the function of the corresponding genes involved in the ripening. Silencing constructs had approximately 300bp fragment of the gene of interest (*FaTAA1* and *FaTAR2*) in sense and antisense direction, interrupted by an intron (belonging to quinone oxidoreductase gene from strawberry *FaQR*). *Agrobacterium* suspensions containing the silencing constructs (pBI-*FaTAA1i* and pBI-*FaTAR2i*) were injected into attached fruits, 14 days after pollination. Fruits infiltrated with *Agrobacterium* containing the pBI-Intron (empty vector) or pBI-*CHSi* (carrying a fragment of the *FaCHS* gene in the sense and antisense orientation interrupted by an intron) were used as negative and positive controls of the silencing effect, respectively. About 10–14 days after injection, fruits injected with the pBI-Intron control vector developed an uniform red color, confirming that the normal fruit ripening is not affected apparently by infiltration with *Agrobacterium* cells. Fruits infiltrated with pBI-*CHSi* constructs, used as positive control, consistently showed a phenotype with white regions in the receptacle, which is

related to the diminished production of anthocyanins. The fruits infiltrated with pBI-*FaTAA1i* and pBI-*FaTAR2i* construction did not showed an altered phenotype in color or size. However, the relative expression levels of the genes *FaTAA1* and *FaTAR2* were evaluated by qRT-PCR in the agroinfiltrated fruits. We did not observe any change in the expresión of *FaTAA1* gene in the receptacle of the fruits injected with pBI-*FaTAA1i*, so we do not show any result for this construction. This lack of effectiveness might be due to the fact that the expression level of the *FaTAA1* in the receptacle is very low, what makes difficult to detect by qRT-PCR minor changes in transcripts level between the control (empty vector) and the silenced (pBI-*FaTAA1i*) samples. It cannot be discarded that the selected sequence for the RNAi construct was not present in the transcripts of the ripening receptacle.

In the case of the 12 fruits that were agroinfiltrated with pBI-*FaTAR2i* construction, it was observed a decrease in the expression of *FaTAR2* gene in the receptacle of two fruits (RNAi 4 and RNAi 10) compared to the control. The decrease in the expression of *FaTAR2* gene in these two fruits was between 65-70% compared with fruits infiltrated with the solution of *Agrobacterium* carrying the empty vector (pBI-Intron). The relative expression of the 6 negative controls (empty vector) was very similar with no significant differences among them. The effectiveness of this silencing was also checked by monitoring the expression of genes known to be transcriptionally regulated by auxin. The first steps in the auxin signaling reception are relatively well known (Salehin *et al.*, 2013). In the case of Aux/IAA proteins It is known that the degradation of these proteins, via the ubiquitin-proteasome in high concentrations of auxin, relieves in repression and leads to activation of auxins responsive genes (Guilfoyle and Hagen, 2007; Chapman and Estelle 2009; Guilfoyle T, 2015). These genes transcriptionally respond to treatment with auxin (Zhao, 2010). The Aux/IAA proteins act as repressors of auxin-dependent gene expression, but at the same time are transcriptionally regulated by auxin (Benjamin and Scheres, 2008; Pattinson *et al.*, 2014). In the 21 members of Aux/IAA identified in *F. vesca* (Kang *et al.*, 2013), two of them were selected, the *FaAux/IAA8a* and *FaAux/IAA11*, which presented increased expression during ripening, and had their highest expression in the red receptacle. The expression of the *FaAux/IAA11* gene in the fruit RNAi 4 showed a diminution of almost 65 %, and the fruit RNAi 10 showed a decrease of almost 55% in expression compared to the control. The decreased expression of *FaAux/IAA8a* and *FaAux/IAA11* in the silencing fruits might be an indication of decreased level of auxin in silenced fruits, although this decrease could not be detected by direct measurement of auxin.

In auxin transcriptional regulation by the Aux/IAA repressor proteins they interact with the auxin response transcription factors (ARF) (Guilfoyle and Hagen, 2012). Although not tested in all cases, there is a specificity between Aux/IAA and corresponding ARFs. It was described that when auxin levels are low in the cell, the interactions between the ARFs with the repressors (Aux/IAA), facilitate the repression of auxin-responsive genes (Guilfoyle, 2015), so we decided to observe the expression of two ARFs in the receptacle of the fruit RNAi 4 agroinfiltrated with *pBI-FaTAR2i*. The *FaARF6a* gene showed the higher expression in the red receptacle than in the green receptacle, according to the expression data available from the RNA-seq analysis. In contrast, the *FaARF4* showed a lower expression in the red receptacle in comparison with the green receptacle. In the *FaTAR2* partially silenced RNAi 4 fruit we found that these two genes showed altered expression, but in opposed directions. Whereas *FaARF4* was up-regulated, *FaARF6a* was down-regulated. It has not been described that genes of the *ARF* family are transcriptionally responsive to auxin. Moreover, in the 23 *ARF* genes in *Arabidopsis*, some are classified as transcriptional activators, like *ARF5-ARF8* and *ARF19*, whereas others, as *ARF2-ARF4* and *ARF9*, function as transcriptional repressors (Guilfoyle *et al.*, 2007; Peer, 2013). Based on sequence similarity with the *Arabidopsis* genes it can be speculated that *FaARF4* in strawberry might act as a activator, and *FaARF6a* as repressor, as their homologous in *Arabidopsis* *ARF4* (AT5G60450) and *ARF6* (AT1G30330), respectively. Either way, the significance of these changes merit further analysis, as in strawberry, like in other species, *ARFs* form a complex family, whose members have significant expression changes during fruit ripening.

The four aim of this part of the work, was to determine the effect of the modifying the auxins biosynthesis, by ectopic expression of *Arabidopsis TAA1*, in the development and ripening of strawberry fruit. The overexpression of the *TAA1* gene under 35S promoter in *Arabidopsis* has been useful to study the action of auxin in various developmental processes in this species. (Robert *et al.*, 2013). We generated transgenic plants expressing the *Arabidopsis TAA1* gene under control of the 35S promoter. The generation of transgenic plants probably constitutes one of the most effective mean for studying the action and function of genes in different developmental processes in plants. It is known that the *TAA1* gene from *Arabidopsis* plays a critical role in embryogenesis, flower development, growth of seedlings, vascular pattern,

lateral root formation, tropism and hypocotyl elongation (Stepanova *et al.*, 2008; Tao *et al.*, 2008; Yamada *et al.*, 2009). In our laboratory, transgenic plants of *F. × ananassa* expressing the β -glucuronidase gene (*GUS*) under the control of *DR5* promoter had been developed. The *DR5* promoter contains a synthetic elements that induces the transcriptional response to auxin (Ulmasov *et al.*, 1995; Ottenschlager *et al.*, 2003). These plants were selected because they are a reliable indicator of the output signal of auxin (Brunoud *et al.*, 2012). These *DR5-GUS* transgenic plants were transformed with the *Arabidopsis* gene *TAA1*, linked to the coding region of green fluorescent protein (*GFP*) at the amino terminus, under the control of the 35S promoter.

The first selection of double transgenic seedlings was performed by hygromycin resistance, with only few seedlings with deep green leaves and roots. Double transformation lines *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1* were evaluated by PCR. Plant genomic DNA was extracted and preselected by PCR for the presence of the *nptII* gene conferring resistance to kanamycin and the *hph* gene conferring hygromycin resistance. Despite not having detected an increase in the amount of IAA, or the expression of the *GUS* gene, *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1* plants showed some differential features. Thus, the number of flowers was less in the three transgenic lines selected for the study, as it was the number of fruits that developed up to the ripe stage. There are many reports of involvement of auxin in both processes. Thus, previous studies have reported that inhibition of polar auxin transport leads to accumulation of IAA in meristems to levels that are inhibitors for the formation of new organs (Cheng Y *et al.*, 2007). Whether or not this is a hint that ectopic expression of *AtTAA1* is causing some increase of auxin in the meristems should be considered, although we did not see significant differences in the accumulation of IAA in leaves. In any case the *DR5::GUS 35S::GFP-AtTAA1* plants are a tool to explore the importance of auxin in different strawberry developmental processes, particularly in the growth and ripening of the fruit.

Several studies have shown an interaction between auxin and ethylene in different developmental processes and under different environmental conditions. These two hormones are known to interact either synergistically, to control growth processes and specific developments, such as root elongation and formation, or antagonistically, as the formation of lateral roots and hypocotyl elongation (Muday *et al.*, 2012). Thus, in addition to the possible involvement of auxin in the ripening of the receptacle, we knew

that ethylene also participates in some of the changes occurring in the ripening strawberry fruit (Merchante *et al.*, 2013a). The availability of ethylene-insensitive strawberry lines (*etr1-1*) offered the possibility of investigate the interaction of these two hormones in relation to the receptacle ripening. For these reasons our fifth aim was to use the ethylene-insensitive strawberry lines *etr1-1* to explore the role of the two hormones, and their interaction, in developing receptacle. On this purpose, expression study by RNAseq was performed in the receptacle of two transgenic lines *etr1-1*, at the turning stage, to be compared with the expresion of untransformed control line.

Strawberry has been classified as a non-climacteric fruit, because there is not an increase in the rate of respiration and ethylene production at a certain stage of development, that triggers the ripening process. The information on ethylene production by strawberry fruits is not clear, probably due to the low levels of this hormone produced by this organ. Thus, it has been shown that the achenes produce 50% of the ethylene that is detected in the mature fruit (Iannetta *et al.*, 2006). In the green and white stages decreased the ethylene produced, and in the red fruit an increased production of ethylene was reported (Trainotti *et al.*, 2005). The synthesis of ethylene in plants is synthesized from methionine and is highly regulated. The first step of the biosynthesis is the conversion of methionine to s-adenosyl-L-methionine (SAM), which in turn is converted to 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) by the enzyme ACC synthase (ACS) (Adams and Yang 1979). The ACC is then converted to ethylene by the enzyme ACC oxidase (ACO), also called ethylene forming enzyme (Rottmann *et al.*, 1991; Barry *et al.*, 1996; Manning *et al.*, 2006).

In the cultivated strawberry some ACO genes were identified (*FaACO1* and *FaACO2*) (Trainotti *et al.*, 2005). More recently, it was reported the expression of a more complete set of genes involved in the ethylene biosynthetic pathway. The analysis of the expression patterns of *FaACS* and *FaACO* is indicative of two organ-specific stages, with the highest expression values in the green achenes (*FaACS3*, *FaACS4*, and *FaACO3*) and the green/white receptacles (*FaACS1*) (Merchante *et al.*, 2013). This information suggests that ethylene production is important in the achene at this stage. In receptacle, the highest expression of *FaACS1* occurred at the green/white stage, when cell expansion is very active and just before the transition to the ripening stage. The expression of these genes is associated with the early production of ethylene (Merchante *et al.*, 2013). In order to deepen into the role played

by ethylene in the strawberry fruit ripening,, Merchante *et al.*,(2013a) generated independent lines of transgenic strawberry plants that overexpress the *Arabidopsis etr1-1* mutant ethylene receptor, which is a dominant negative allele, causing diminished sensitivity to ethylene. These studies showed that the genes involved in ethylene perception as well as in its related downstream processes, such as flavonoid biosynthesis, pectin metabolism, and volatile biosynthesis, were differently expressed in two transgenic tissues, the achene and the receptacle. The different transcriptional responsiveness of the achene and the receptacle to ethylene was also revealed by the metabolic profiling of the primary metabolites in these two organs. The free amino acid content was higher in the transgenic lines compared with the control in the mature achene, while glucose and fructose, and citric and malic acids were at lower levels. In the receptacle, the most conspicuous change in the transgenic lines was the depletion of the tricarboxylic acid cycle intermediates at the white stage of development, most probably as a consequence of diminished respiration. All together, these results showed the importance of ethylene during strawberry fruit ripening (Merchante *et al.*, 2013).

In order to explore the role of ethylene, and its interaction with hormones, especially auxin in developing receptacle, we were decided to study the change in the transcriptome of the receptacle by RNA-seq analysis, at the turning phase, in ethylene-insensitive strawberry lines *etr1-1* and untransformed control line. Two different independent transgenic lines *etr1-1* were used for the study (L10 and L12). The sampling stage to compare the expression of transgenic (L10 and L12) and non-transgenic (control) lines was receptacle corresponding to fruits at the intermediate (around 50% red) stage of development. According to our previous studies (Merchante *et al.*, 2013a) this would correspond to the stage of active ethylene syntesis in this organ. The analysis of the RNA-seq results was performed in the CLC Genomics Workbench. To normalize the number of different readings mapped between samples, the extent of expression was used: RPKM (reads per kilobase of exon model per million mapped reads) (Mortazavi *et al.*, 2008). In the analysis of RNA-seq data, 1214 genes with significant differential expression for the line *etr1-1* L12 in comparison to the control were identified, but for the *etr1-1* L10 685 genes were identified as differentially expressed compared to the control (Table 1 Annexes). However, only a total of 120 genes showed significant differences in the two lines in relation to the control. Our best explanation is that this low number of genes with significant expression in the two lines might be due to: A) The level of the transgene (*etr1-1*) expression, and therefore of

silencing, is different for each line, which would determine eventually a difference in sensitivity to ethylene for each transgenic line. It should be indicated that it is a competitive system between the mutated and the endogenous receptor for ethylene binding. B) The cell developmental stage was not uniform throughout the sample. In the experimental design the receptacle was sampled at the turning stage, when half of the cells are synthesizing anthocyanins and the other half are at a previous stage. This lack of uniformity can mask, or dilute, some of the transcriptional effects expected from the ethylene silencing.

Therefore, it was decided to use the results of the lines *etr1-1* L10 and *etr1-1* L12, which were significant in at least one of them, while in the other line clearly showed the same trend, either increasing or decreasing expression relative to control. A total of 382 genes that met this requirement were selected (Table 2 Annexes). Because *etr1-1* L12 line showed higher number of significant genes within the selected set of 382 genes, it was decided to use the expression values of this line for further studies. In addition to individual analysis of several groups of genes, we selected the Mapman tool for this study, which gives a diagrammatic view of different genes related to metabolic routes (Thimm *et al.*, 2004).

In the Mapman program, we mapped the 382 genes selected based on expression values of *etr1-1* line L12. Genes were imported into a document program with specific parameters such as the identifier and the gene expression value, which was evaluated by the change of the expression in the transgenic line L12 and *etr1-1* given in log2 scale compared to the control. The program data automatically organized into functional categories called Bins and subBins (subcategories). In the Table 2 of the annexes are shown the BinCode categories, BinName, ID (identification of the gene), function based on the genome of *F. vesca* annotation, RPKM values (the control and both lines *etr1-1* L10 and *etr1-1* L12) and the expression values in Log2. With these Bins we had the option to display the different diagrams pertaining to metabolic maps.

Mapman global analysis identified groups of genes that were particularly important for an understanding of the action of ethylene in strawberry receptacle. These groups corresponded to differentially expressed genes within the categories of

the action of hormones, transcription factors and genes related to biotic and abiotic stresses.

The set of genes whose expression was altered in *etr1-1* receptacle reinforces a relationship between ethylene and auxin in the ripening of the strawberry fruit receptacle. Our previous study in plants partially insensitive to ethylene supported the involvement of ethylene in some of the changes associated to the ripening of this tissue (Merchante *et al.*, 2013). The new results point to the possibility that auxin could mediate this role of ethylene. Thus, the expression of two genes of the *Auxin Response Factor (ARF)* family of transcription factors are changed in the *etr1-1* plants, and a gene encoding for a putative *Indole-3-acetic Acid-amido Synthetase (GH3)* showed enhanced expression in the ethylene-insensitive *etr1-1* plants. Other genes annotated as auxin induced (*5NG4* and *PCNT115*) also showed altered expression in relation to the control in the *etr1-1* receptacle.

In our analysis, we also found genes differentially expressed related to gibberellins. The putative *gibberellin 3-beta-oxidase 3 (FaGA3ox3)* gene showed a decrease in expression in the receptacle *etr1-1* lines. In contrast, the genes identified as *gibberellin 2-oxidase 1 and 2 (FaGA2ox1 and FaGA2ox2)*, showed an increase in its expression. It is known that the GA3ox converts GA9 and GA20 into the bioactive gibberellins (GA4 and GA1). On the other hand, the GA2ox, inactivates the active GAs by hydroxylation. So the decreased expression of the gene identified as *FaGA3ox* and increased expression of the genes identified as *FaGA2ox* suggests that the level of gibberellin can be reduced in the receptacle at the turning stage in the *etr1-1* transgenic lines. The involvement of GAs in the development of strawberry receptacle has been established (Csukasi *et al.*, 2011). Moreover, in the strawberry receptacle was found that the expression of *FaGA3ox* varies and decreases when removing the achenes from the receptacle, and therefore auxin levels were decreased (Csukasi *et al.*, 2011). Whether or not ethylene is involved in this auxin-gibberelin interaction would be important to be studied in depth.

Among the 382 analyzed genes there was a number of them corresponding to transcription factors. Two of the genes, a *MYB* type (*APL*) and a *NAC* type (*ANAC018*) showed increased expression in the transgenic *etr1-1* receptacle, while a member of the *Ethylene-responsive transcription factor ABI4 (ERF ABI4)* and another *Squamosa*

promoter-binding-like protein 13 (SBP) decreased their expression in the receptacle of the *etr1-1* lines in comparison to the control. Interestingly, an SBP gene has been reported to be involved in tomato fruit ripening (Ferreira e Silva *et al.*, 2014). In other species as *Arabidopsis* and bilberry, the activity of SBP has been associated to the synthesis of anthocyanins (Jaakola *et al.*, 2010; Gou *et al.*, 2011). It is important to note that previous analysis of the *etr1-1* fruits showed a decrease in the content of phenolic compounds relative to non-transformed control (Merchante *et al.*, 2013a).

One of the mayor changes that we observed in the analysis of RNA-seq in *etr1-1* at turning stage was in genes involved in abiotic and biotic stress. Its known that ethylene is essential not only for many developmental processes, but also it is a key mediator in responses to biotic and abiotic stress in plants (Müller *et al.*, 2015). The gene identified as BES/BZR1 showed a decreased expression at turning stage of *etr1-1* plants. This gene is considered to play a key role to integrate multiple signals related to development and defense (Lozano-Duran *et al.*, 2015). Also we identified 3 peroxidases that increase their expression in terms of log2 of the fold change. In strawberry fruit it has been proposed that the peroxidase *FaPOD27* is involved in lignin synthesis occurring in fruit ripening, and it is responsive to the infection by *Agrobacterium* (Yeh *et al.*, 2014). However, none of the peroxidases that change in the *etr1-1* lines is *FaPOD27*.

Genes annotated as a cytokinin dehydrogenase 1 (*CKO1*) and cytokinins-O-glucosyl transferase 2 (*AtZOG2*) showed an increase in expression in the receptacle *etr1-1*. In contrast another gene identified as *AtZOG1* showed a decreased expression. The corresponding enzymes are responsible for cytokinin degradation and conjugation, respectively. It has been proposed that the CKO protein participates in the regulation of the response to biotic stress by cytokinins (Franc *et al.*, 2012). The opposite changes in strawberry genes (*FaZOG*) corresponding to cytokinin-O-glucosyl transferases may reflect different aspects of the action of cytokinins in the receptacle development. At the early stages, they are related to the active cell division, at later stages they are related with the ability to response to abiotic stress, where cytokinins play an important role in the plants adaptation to stress (Ha *et al.*, 2012).

Two genes identified as *methionine sulfoxide reductase (MSR)*, showed a decrease in their expression values compared to the control. The MSRs proteins have been associated with stress responses, disease, and senescence in a taxonomically diverse array of organisms (Lee *et al.*, 2014). In Strawberry it has been identified a

peptide methionine sulphoxide reductase (*FaPMSR*) gene (López *et al.*, 2006). In these studies the authors showed that the expression of the *FaPMSR* gene was activated in green immature fruits when achenes were removed from receptacle (López *et al.*, 2006). These results indicate that expression of the *FaPMSR* gene could be regulated by auxins. Again, we identified a gene whose expression is related to both ethylene and auxin. In general, the RNA-seq analysis showed genes affected in auxin, such as transcription factors, transport, signaling and other genes induced by this plant hormone, generally exhibiting increased expression in the ethylene-silenced lines. This could suggest that by decreasing the sensitivity of ethylene, auxin homeostasis may function through mechanisms to maintain proper development of the plant and the fruit. Whether this is indicative that in strawberry the action of auxin takes place first than the ethylene, deserves to be explored. For our results, we cannot conclude it. However, global analysis of the RNAseq data show that ethylene, even is not a key hormone in the development of strawberry fruits, is involved in some specific processes taking place during receptacle ripening, like the metabolism of flavonoids, cell wall assembly, response to pathogens, aroma production. These roles are done in close interaction with other hormones.

Conclusions

- The expression of the auxin biosynthetic genes from the IPA pathway showed a expression pattern in achenes and receptacle specific in each organ. The *FaTAA1*, *FaTAR2*, *FaYUC2* and *FaYUC7* genes showed expression in the latest stages of ripening in the receptacle of the strawberry fruit, being *FaTAR2* which showed its greatest value in red receptacle.
- The fusion protein GST-FaTAA1 produced in *Escherichia coli* showed aminotransferase activity *in vitro*, which was shown both by gel assay as detection of products by HPLC.
- The transient silencing by RNAi for the *FaTAR2* gene in the receptacle, showed expression changes in the repressor genes (*Aux/IAA8* and *Aux/IAA11*) and the auxin-response genes (*ARF4* and *ARF6a*) which supports a function of auxin in the final phase of ripening in the receptacle.
- The results of the transcriptomic analysis in the receptacle at turning stage of ethylene insensitive strawberry plants, showed changes in genes involved in the metabolism of flavonoids, changes in the cell wall, in response to pathogens and interacting with various hormones involved in biotic stress and fruit ripening. This confirms that ethylene, although is not essential in the ripening of the strawberry, its involved in relevant processes in the development of the receptacle.

Anexos:

Tabla1. Análisis del RNA-seq de las plantas *etr1-1* Línea 10 y Línea 12 en receptáculo en estadio intermedio (Documento adjunto a esta tesis).

Tabla 2. Análisis del RNA-seq de las plantas *etr1-1* Línea 10 y Línea 12 en receptáculo en estadio intermedio.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Tabla 2. Los 382 genes seleccionados en las categorías del programa Mapman de la línea *etr1-1* L12. Se muestra los valores en RPKM de L10, L12 y control y los valores en términos de Log2 para la línea 12. Los valores mostrados representan la media de 3 réplicas biológicas independientes. En azul se muestran los genes significativos de la línea *etr1-1* L 10 y en verde los genes significativos de la línea *etr1-1* L12.

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de <i>etr1-1</i> L10	RPKM de <i>etr1-1</i> L12	Log2 fold change <i>etr1-1</i>
1.1.1.2	PS.lightreaction.photosystem II.PSII polypeptide subunits	gene21269-v1.0-hybrid	Lysine-specific demethylase 2B (probable)	2,65	1,60	2,01	-0,40
1.3.2	PS.calvin cycle.rubisco small subunit	gene03736-v1.0-hybrid	Ribulose biphosphate carboxylase small chain 1, chloroplastic (RuBisCO small subunit 1), Precursor (putative)	0,47	0,16	0,23	-1,03
2.1.1.1	major CHO metabolism.synthesis.sucrose.SPS major CHO metabolism.degradation.starch.starch cleavage	gene31164-v1.0-hybrid	Sucrose-phosphate synthase 2 (putative)	0,65	0,89	1,25	0,96
2.2.2.1	minor CHO metabolism.myo-inositol.myo inositol oxygenases	gene28570-v1.0-hybrid	Alpha-amylase, Precursor (similar to)	6,73	6,68	8,39	0,32
3.4.4	minor CHO metabolism.others	gene00865-v1.0-hybrid	Inositol oxygenase 1 (MI oxygenase 1) (similar to)	5,43	5,55	6,73	0,31
3.5	minor CHO metabolism.others	gene00865-v1.0-hybrid	Inositol oxygenase 1 (MI oxygenase 1) (similar to)	5,43	5,55	6,73	0,31
3.5	minor CHO metabolism.others	gene09318-v1.0-hybrid	Probable NAD(P)H-dependent oxidoreductase 1	29,52	20,30	25,21	-0,23
3.6	minor CHO metabolism.callose	gene24409-v1.0-hybrid	Callose synthase 9 (similar to)	0,20	0,27	0,32	0,71
4.1.4	glycolysis.cytosolic branch.phosphofructokinase (PFK)	gene29165-v1.0-hybrid	Pyrophosphate--fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase subunit alpha (PFP) (putative)	8,98	10,03	11,82	0,40
5.1	fermentation.LDH	gene31759-v1.0-hybrid	L-lactate dehydrogenase A (LDH-A) (putative)	47,62	64,73	52,69	0,15
10.1.10	cell wall.precursor synthesis.UDP-glucose 4,6-dehydratase	gene28621-v1.0-hybrid	Probable rhamnose biosynthetic enzyme 3 (similar to)	2,22	2,96	3,14	0,50
10.2.1	cell wall.cellulose synthesis.cellulose synthase	gene10109-v1.0-hybrid	Cellulose synthase A catalytic subunit 7 [UDP-forming] (AtCesA7) (putative)	0,33	0,20	0,10	-1,67
10.6.2	cell wall.degradation.mannan-xylose-arabinose-fucose	gene05164-v1.0-hybrid	Beta-D-xylosidase 1 (AtBXL1), Precursor (similar to)	68,48	107,92	116,76	0,77
10.6.3	cell wall.degradation.pectate lyases and polygalacturonases	gene16611-v1.0-hybrid	Probable pectate lyase 8, Precursor (similar to)	0,07	0,01	0,00	0,00
10.6.3	cell wall.degradation.pectate lyases and polygalacturonases	gene21420-v1.0-hybrid	Polygalacturonase (PG), Precursor (similar to)	0,42	0,33	0,38	-0,16
10.7	cell wall.modification	gene00661-v1.0-hybrid	Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 33 (At-XTH33), Precursor (putative)	16,83	20,35	44,87	1,42
10.7	cell wall.modification	gene04299-v1.0-hybrid	Expansin-A25 (AtEXPA25), Precursor (similar to)	0,37	0,13	0,33	-0,15
10.7	cell wall.modification	gene05220-v1.0-hybrid	Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23 (At-XTH23), Precursor (similar to)	0,48	0,61	1,66	1,79
10.7	cell wall.modification	gene06605-v1.0-hybrid	Brassinosteroid-regulated protein BRU1, Precursor (putative)	4,08	2,18	3,41	-0,26
10.7	cell wall.modification	gene10527-v1.0-hybrid	Expansin-like B1, Precursor (similar to)	0,11	0,05	0,09	-0,33
10.7	cell wall.modification	gene19781-v1.0-hybrid	Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23 (At-XTH23), Precursor (putative)	9,15	10,53	25,81	1,50
10.7	cell wall.modification	gene19782-v1.0-hybrid	Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23 (At-XTH23), Precursor (putative)	15,30	20,72	49,05	1,68
10.7	cell wall.modification	gene28696-v1.0-hybrid	Brassinosteroid-regulated protein BRU1, Precursor (similar to)	1,92	2,26	4,69	1,29

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
11.1.1	lipid metabolism.FA synthesis and FA elongation.Acetyl CoA Carboxylation	gene21287-v1.0-hybrid	Pyruvate carboxylase subunit B (probable)	11,42	13,59	15,10	0,40
11.1.6	lipid metabolism.FA synthesis and FA elongation.enoyl ACP reductase	gene22616-v1.0-hybrid	Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH], chloroplastic, Precursor (putative)	2,57	3,60	4,65	0,86
11.1.13	lipid metabolism.FA synthesis and FA elongation.acyl-CoA binding protein	gene22075-v1.0-hybrid	RING finger protein B (Protein mgB) (probable)	0,88	0,94	1,21	0,46
11.1.15	lipid metabolism.FA synthesis and FA elongation.ACP desaturase	gene21537-v1.0-hybrid	Acyl-[acyl-carrier-protein] desaturase, chloroplastic, Precursor (putative)	519,09	577,81	625,67	0,27
11.1.31	lipid metabolism.FA synthesis and FA elongation.pyruvate DH	gene30622-v1.0-hybrid	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta (similar to)	87,51	98,12	101,40	0,21
11.3.8	lipid metabolism.Phospholipid synthesis.phosphatidylserine decarboxylase	gene08910-v1.0-hybrid	Phosphatidylserine decarboxylase 2 alpha chain, Precursor (probable)	0,94	1,03	1,22	0,37
11.5.1	lipid metabolism.glycerol metabolism.glycerol kinase	gene15992-v1.0-hybrid	Glycerol kinase (GK) (probable)	2,26	0,53	0,54	-2,07
11.9.3.2	lipid metabolism.lipid degradation.lysophospholipases.carboxyl esterase	gene05846-v1.0-hybrid	Acyl-protein thioesterase 2 (APT-2) (probable)	0,21	0,07	0,10	-1,01
12.3.1	N-metabolism.N-degradation glutamate dehydrogenase	gene21418-v1.0-hybrid	Glutamate dehydrogenase 2 (GDH 2) (putative)	10,15	15,42	12,24	0,27
13.1.2.3.31	amino acid metabolism.synthesis.glutamate family.arginine.aspartate racemase	gene31000-v1.0-hybrid	Probable amino-acid racemase	0,75	0,45	0,22	-1,76
13.1.3.1.1	amino acid metabolism.synthesis.aspartate family.asparagine.asparagine synthetase	gene07938-v1.0-hybrid	Asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing] (putative)	10,78	18,03	13,78	0,35
13.1.6.1.10	amino acid metabolism.synthesis.aromatic aa.chorismate.dehydroquinate/shikimate dehydrogenase	gene22235-v1.0-hybrid	Shikimate dehydrogenase, Precursor (similar to)	4,78	5,13	6,61	0,47
13.2.3.4.1	amino acid metabolism.degradation.aspartate family.methionine.methionine gamma-lyase	gene01897-v1.0-hybrid	Embryogenesis-associated protein EMB8 (similar to)	40,32	26,96	22,61	-0,83
13.2.6.3	amino acid metabolism.degradation.aromatic aa.tryptophan	gene05329-v1.0-hybrid	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase, mitochondrial (HIB-CoA hydrolase), Precursor (probable)	74,51	96,98	107,32	0,53
15.2	metal handling.binding, chelation and storage	gene18413-v1.0-hybrid	Metallothionein-like protein type 2 MET1 (similar to)	38,94	74,14	59,05	0,60

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
16.1.4.21	secondary metabolism.isoprenoids.carotenoids.viola xanthin de-epoxidase	gene21138-v1.0-hybrid	Violaxanthin de-epoxidase, chloroplastic, Precursor (probable)	3,01	3,88	3,40	0,18
16.2.1.6	secondary metabolism.phenylpropanoids.lignin biosynthesis.CCoAOMT	gene02148-v1.0-hybrid	Caffeoyl-CoA O-methyltransferase (CCoAOMT)	101,17	90,62	86,72	-0,22
16.7	secondary metabolism.wax	gene11983-v1.0-hybrid	Long-chain-alcohol O-fatty-acyltransferase (probable)	1,19	0,58	0,68	-0,43
16.7	secondary metabolism.wax	gene19767-v1.0-hybrid	Long-chain-alcohol O-fatty-acyltransferase (probable)	8,50	9,54	13,24	0,64
16.8.1.12	secondary metabolism.flavonoids.anthocyanins.anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase	gene20725-v1.0-hybrid	Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase (probable)	3,56	3,95	7,89	1,15
16.8.3	secondary metabolism.flavonoids.dihydroflavonols	gene20833-v1.0-hybrid	Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase (probable)	8,91	6,63	3,07	-1,54
16.10	secondary metabolism.simple phenols	gene27522-v1.0-hybrid	Putative laccase-9, Precursor (similar to)	0,14	0,30	0,29	1,05
16.10	secondary metabolism.simple phenols	gene27526-v1.0-hybrid	Laccase-15, Precursor (putative)	8,05	4,66	2,81	-1,52
17.1.3	hormone metabolism.abscisic acid.induced-regulated-responsive-activated	gene01374-v1.0-hybrid	GEM-like protein 5 (similar to)	27,13	34,34	55,87	1,04
17.2.2	hormone metabolism.auxin.signal transduction	gene05434-v1.0-hybrid	Probable auxin efflux carrier component 1b (similar to)	0,11	0,00	0,05	-0,99
17.2.2	hormone metabolism.auxin.signal transduction	gene12312-v1.0-hybrid	Auxin efflux carrier component 2 (AtPIN2) (putative)	0,19	0,42	0,23	0,27
17.2.3	hormone metabolism.auxin.induced-regulated-responsive-activated	gene05414-v1.0-hybrid	Ribonuclease 3 (RNase III) (probable)	102,08	93,12	70,11	-0,54
17.2.3	hormone metabolism.auxin.induced-regulated-responsive-activated	gene10434-v1.0-hybrid	Indole-3-acetic acid-induced protein ARG7 (probable)	0,18	0,73	1,28	2,81
17.2.3	hormone metabolism.auxin.induced-regulated-responsive-activated	gene10566-v1.0-hybrid	Putative indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3.9 (AtGH3-9)	0,31	0,99	0,59	0,96
17.2.3	hormone metabolism.auxin.induced-regulated-responsive-activated	gene12929-v1.0-hybrid	Auxin-induced protein 15A (similar to)	0,43	0,72	0,61	0,49
17.2.3	hormone metabolism.auxin.induced-regulated-responsive-activated	gene16556-v1.0-hybrid	Auxin-induced protein PCNT115 (similar to)	0,16	0,19	0,65	1,99
17.3.2.2	hormone metabolism.brassinosteroid.signal transduction.BZR	gene29525-v1.0-hybrid	BES1/BZR1 homolog protein 2 (putative)	138,46	122,46	91,67	-0,60
17.4.1	hormone metabolism.cytokinin.synthesis-degradation	gene14452-v1.0-hybrid	Cytokinin dehydrogenase 1 (CKO 1), Precursor (similar to)	2,37	2,69	3,95	0,74
17.5.1	hormone metabolism.ethylene.synthesis-degradation	gene01202-v1.0-hybrid	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase (ACC oxidase) (similar to)	142,00	151,84	205,60	0,53
17.5.1	hormone metabolism.ethylene.synthesis-degradation	gene11731-v1.0-hybrid	Gibberellin 3-beta-dioxygenase 3 (AtGA3ox3) (probable)	3,19	1,68	1,94	-0,72

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
17.5.1	hormone metabolism.ethylene.synthesis-degradation	gene24392-v1.0-hybrid	Gibberellin 2-beta-dioxygenase 2 (putative)	0,15	0,17	0,21	0,46
17.5.1	hormone metabolism.ethylene.synthesis-degradation	gene30779-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1443627,1443741] Protein SRG1 (AtSRG1) (probable)	63,66	94,26	159,73	1,33
17.5.1	hormone metabolism.ethylene.synthesis-degradation	gene30782-v1.0-hybrid	Protein SRG1 (AtSRG1) (probable)	75,14	87,06	115,79	0,62
17.5.1	hormone metabolism.ethylene.synthesis-degradation	gene31337-v1.0-hybrid	Gibberellin 2-beta-dioxygenase 1 (putative)	47,88	68,47	74,17	0,63
17.5.1	hormone metabolism.ethylene.synthesis-degradation	gene32347-v1.0-hybrid	Leucoanthocyanidin dioxygenase (LDOX) (putative)	1335,32	1362,46	995,03	-0,42
	18 Co-factor and vitamine metabolism	gene20470-v1.0-hybrid	Probable pyridoxal biosynthesis protein PDX1.2 (AtPDX1.2) (putative)	60,86	76,79	63,86	0,07
18.3.2	Co-factor and vitamine metabolism.riboflavin.riboflavin synthase	gene10161-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [670195,671167] 6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase, chloroplastic (DMRL synthase), Precursor (similar to)	4,79	3,89	3,57	-0,42
18.6.1	Co-factor and vitamine metabolism.biotin.biotin synthase	gene22398-v1.0-hybrid	Biotin synthase (similar to)	7,22	8,60	8,01	0,15
20.1	stress.biotic	gene13072-v1.0-hybrid	Endochitinase, Precursor (similar to)	5,71	8,45	15,20	1,41
20.1	stress.biotic	gene20116-v1.0-hybrid	Disease resistance protein RPM1 (probable)	0,13	0,27	0,63	2,26
20.1	stress.biotic	gene21697-v1.0-hybrid	Endochitinase PR4, Precursor (similar to)	7,67	12,10	9,63	0,33
20.1	stress.biotic	gene27107-v1.0-hybrid	Probable disease resistance protein At5g66910	0,81	1,51	3,77	2,22
20.1	stress.biotic	gene31982-v1.0-hybrid	Probable disease resistance protein At5g66910	0,34	0,63	3,03	3,15
20.1	stress.biotic	gene34934-v1.0-hybrid	Putative disease resistance protein RGA3 (probable)	0,56	0,68	0,94	0,76
20.1.7	stress.biotic.PR-proteins	gene26570-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (probable)	0,38	0,00	0,08	-2,29
20.1.7	stress.biotic.PR-proteins	gene34044-v1.0-hybrid	Disease resistance response protein 206 (probable)	2,74	1,06	1,62	-0,76
20.1.7	stress.biotic.PR-proteins	gene35134-v1.0-hybrid	Disease resistance protein AMg27190 (probable)	0,22	0,29	0,43	0,98
	stress.biotic.PR-proteins.proteinase		von Willebrand factor A domain-containing protein	5,06	3,26	3,34	-0,60
20.1.7.6.1	inhibitors.trypsin inhibitor	gene05280-v1.0-hybrid	DDB_G0292028 (probable)				
20.2.1	stress.abiotic.heat	gene03043-v1.0-hybrid	Heat shock cognate 70 kDa protein 2 (Hsc70.2) (similar to)	180,90	207,41	252,76	0,48
20.2.1	stress.abiotic.heat	gene13191-v1.0-hybrid	Heat shock protein 83 (putative)	107,31	149,16	203,24	0,92
20.2.1	stress.abiotic.heat	gene21218-v1.0-hybrid	23.6 kDa heat shock protein, mitochondrial (AtHsp23.6), Precursor (probable)	9,16	14,80	10,50	0,20
20.2.1	stress.abiotic.heat	gene21595-v1.0-hybrid	Heat shock 70 kDa protein (similar to)	0,23	1,20	1,36	2,58
20.2.1	stress.abiotic.heat	gene26629-v1.0-hybrid	Heat shock cognate 70 kDa protein 2 (putative)	405,53	503,05	599,29	0,56
20.2.99	stress.abiotic.unspecified	gene12483-v1.0-hybrid	Auxin-binding protein ABP19a, Precursor (putative)	0,00	0,18	0,12	0,12
21.2.1	redox.ascorbate and glutathione.ascorbate	gene18099-v1.0-hybrid	L-ascorbate peroxidase 2, cytosolic (APX1b) (putative)	18,51	14,08	13,62	-0,44

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
	redox.ascorbate and glutathione.ascorbate.L-galactose dehydrogenase	gene07356-v1.0-hybrid	D-arabinose 1-dehydrogenase (probable)	19,50	24,10	34,56	0,83
21.2.1.4	redox.heme	gene19672-v1.0-hybrid	Hemoglobin-2 (putative)	4,34	2,59	2,65	-0,71
22.2.1	polyamine metabolism.degradation.polyamin oxidase	gene29471-v1.0-hybrid	Polyamine oxidase 1 (AtPAO1) (similar to)	0,45	0,66	1,18	1,41
23.4.10	nucleotide metabolism.phosphotransfer and pyrophosphatases.nucleoside diphosphate kinase	gene22703-v1.0-hybrid	Nucleoside diphosphate kinase 2 low molecular weight, Precursor (putative)	10,72	8,72	8,55	-0,33
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene00095-v1.0-hybrid	Cytokinin-O-glucosyltransferase 1 (AtZOG1) (probable)	6,17	3,50	2,52	-1,29
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene09821-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1403063,1403082] Cytokinin-O-glucosyltransferase 1 (AtZOG1) (similar to)	0,84	0,38	0,30	-1,47
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene12684-v1.0-hybrid	Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase (probable)	7,08	10,74	7,20	0,03
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene16329-v1.0-hybrid	Xyloglucan galactosyltransferase KATAMARI1 (probable)	11,88	16,48	14,97	0,33
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene20833-v1.0-hybrid	Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase (probable)	8,91	6,63	3,07	-1,54
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene24224-v1.0-hybrid	Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase 6 (similar to)	2,06	2,10	5,54	1,43
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene24225-v1.0-hybrid	Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase 6 (similar to)	62,44	63,46	123,26	0,98
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene24226-v1.0-hybrid	Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase 6 (similar to)	11,95	16,35	35,32	1,56
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene24308-v1.0-hybrid	Cytokinin-O-glucosyltransferase 2 (AtZOG2) (probable)	3,38	4,82	7,53	1,16
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene26305-v1.0-hybrid	Anthocyanin 3'-O-beta-glucosyltransferase (3'GT) (putative)	1,23	1,35	2,88	1,23
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene26344-v1.0-hybrid	Anthocyanin 3'-O-beta-glucosyltransferase (3'GT) (putative)	4,74	5,62	10,88	1,20
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene26345-v1.0-hybrid	Anthocyanin 3'-O-beta-glucosyltransferase (3'GT) (putative)	18,50	20,51	26,05	0,49
26.2	misc.UDP glucosyl and glucoronyl transferases	gene28200-v1.0-hybrid	Cytokinin-O-glucosyltransferase 2 (AtZOG2) (probable)	13,03	11,55	7,05	-0,89

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1
26.3	misc.gluco-, galacto- and mannosidases	gene09481-v1.0-hybrid	ER degradation-enhancing alpha-mannosidase-like 1 (probable)	2,92	3,60	4,97	0,77
26.4.1	misc.beta 1,3 glucan hydrolases.glucan endo-1,3-beta-glucosidase	gene12970-v1.0-hybrid	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 6 ((1->3)-beta-glucanase 6), Precursor (similar to)	5,23	4,76	3,54	-0,56
26.4.1	misc.beta 1,3 glucan hydrolases.glucan endo-1,3-beta-glucosidase	gene21072-v1.0-hybrid	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 8 ((1->3)-beta-glucanase 8), Precursor (putative)	18,07	13,50	13,61	-0,41
26.6	misc.O-methyl transferases	gene18605-v1.0-hybrid	Caffeic acid 3-O-methyltransferase (CAOMT) (probable)	7,58	4,75	5,87	-0,37
26.7	misc.oxidases - copper, flavone etc	gene10140-v1.0-hybrid	Probable NADP-dependent oxidoreductase P2 (putative)	4,19	3,49	2,34	-0,84
26.7	misc.oxidases - copper, flavone etc	gene24029-v1.0-hybrid	UPF0673 membrane protein C1F5.03c (probable)	4,89	3,84	3,62	-0,44
26.7	misc.oxidases - copper, flavone etc	gene29471-v1.0-hybrid	Polyamine oxidase 1 (AtPAO1) (similar to)	0,45	0,86	1,18	1,41
26.9	misc.glutathione S transferases	gene08389-v1.0-hybrid	Probable glutathione S-transferase (similar to)	0,35	0,93	1,50	2,11
26.9	misc.glutathione S transferases	gene10378-v1.0-hybrid	Probable glutathione S-transferase (similar to)	0,99	0,43	0,53	-0,89
26.9	misc.glutathione S transferases	gene10550-v1.0-hybrid	Glutathione S-transferase (similar to)	261,00	216,17	163,86	-0,67
26.10	misc.cytochrome P450	gene00806-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 86A2 (probable)	11,07	15,33	17,23	0,64
26.10	misc.cytochrome P450	gene01896-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 78A3 (putative)	44,80	38,34	25,28	-0,83
26.10	misc.cytochrome P450	gene13399-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 704C1 (probable)	0,31	0,14	0,10	-1,69
26.10	misc.cytochrome P450	gene17296-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 87A3 (probable)	0,85	1,11	1,74	1,04
26.12	misc.peroxidases	gene01539-v1.0-hybrid	Peroxidase 35 (Atperox P35), Precursor (putative)	24,48	46,48	34,74	0,51
26.12	misc.peroxidases	gene09483-v1.0-hybrid	Peroxidase 41 (Atperox P41), Precursor (putative)	0,54	0,70	1,31	1,28
26.12	misc.peroxidases	gene10758-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [696264,696440] Peroxidase 20 (Atperox P20), Precursor (similar to)	0,27	0,06	0,03	-3,15
26.19	misc.plastocyanin-like	gene11810-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1139697,1139746] Basic blue protein (similar to)	1,32	0,64	0,21	-2,65
26.19	misc.plastocyanin-like	gene11914-v1.0-hybrid	Blue copper protein, Precursor (similar to)	1,92	0,84	0,42	-2,21
26.24	misc.GCN5-related N-acetyltransferase	gene09329-v1.0-hybrid	N-acetyltransferase 11 (probable)	0,80	0,52	0,67	-0,25
26.24	misc.GCN5-related N-acetyltransferase	gene28141-v1.0-hybrid	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 1 (BLOC-1 subunit 1) (similar to)	32,57	30,00	24,58	-0,41
27.1	RNA_processing	gene21415-v1.0-hybrid	Polyadenylate-binding protein 2 (Poly(A)-binding protein 2) (similar to)	17,86	13,19	15,81	-0,18
27.1.19	RNA_processing.ribonucleases	gene07080-v1.0-hybrid	Major allergen Pru av 1 (similar to)	987,51	721,99	526,37	-0,91
27.1.19	RNA_processing.ribonucleases	gene07082-v1.0-hybrid	Major allergen Pru av 1 (putative)	90,47	72,98	48,64	-0,90
27.1.19	RNA_processing.ribonucleases	gene26891-v1.0-hybrid	Ribonuclease S-7, Precursor (probable)	14,41	10,37	9,59	-0,59
27.2	RNA.transcription	gene07455-v1.0-hybrid	ATP-dependent RNA helicase SUPV3L1, mitochondrial, Precursor (probable)	8,76	17,05	17,20	0,97
27.2	RNA.transcription	gene21892-v1.0-hybrid	DNA-directed RNA polymerases I, II, and III subunit RPABC1 (RNA polymerases I, II, and III subunit ABC1) (probable)	11,03	8,68	10,14	-0,12
27.3.3	RNA.regulation of transcription.AP2/EREBP, APETALA2/Ethylene-responsive element binding protein family	gene25758-v1.0-hybrid	Dehydration-responsive element-binding protein 3 (similar to)	2,11	1,09	1,75	-0,27
27.3.4	RNA.regulation of transcription.ARF, Auxin Response Factor family	gene09733-v1.0-hybrid	Auxin response factor 18 (similar to)	1,63	1,12	1,52	-0,10

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
27.3.6	RNA.regulation of transcription.bHLH,Basic Helix-Loop-Helix family	gene05560-v1.0-hybrid	Transcription factor bHLH93 (bHLH 93) (probable)	0,84	0,57	0,64	-0,40
27.3.6	RNA.regulation of transcription.bHLH,Basic Helix-Loop-Helix family	gene23830-v1.0-hybrid	Transcription factor HEC1 (bHLH 88) (similar to)	17,49	15,19	8,63	-1,02
27.3.6	RNA.regulation of transcription.bHLH,Basic Helix-Loop-Helix family	gene25273-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [373957,375087] Transcription factor bHLH63 (bHLH 63) (probable)	2,20	2,68	3,81	0,80
27.3.6	RNA.regulation of transcription.bHLH,Basic Helix-Loop-Helix family	gene30667-v1.0-hybrid	Transcription factor DYSFUNCTIONAL TAPETUM 1 (bHLH 22) (probable)	0,51	0,80	0,72	0,49
27.3.7	RNA.regulation of transcription.C2C2(Zn) CO-like, Constans-like zinc finger family	gene30045-v1.0-hybrid	Zinc finger protein CONSTANS-LIKE 4 (probable)	0,75	1,08	1,68	1,17
27.3.15	RNA.regulation of transcription.CCAAT box binding factor family, HAP3	gene21782-v1.0-hybrid	DNA polymerase epsilon subunit 3 (DNA polymerase II subunit 3) (probable)	29,51	26,87	20,86	-0,50
27.3.20	RNA.regulation of transcription.G2-like transcription factor family, GARP	gene19709-v1.0-hybrid	Myb family transcription factor APL (AtAPL) (putative)	5,91	6,52	9,32	0,66
27.3.22	RNA.regulation of transcription.HB,Homeobox transcription factor family	gene02674-v1.0-hybrid	Homeobox protein ATH1 (similar to)	16,75	10,23	13,86	-0,27
27.3.25	RNA.regulation of transcription.MYB domain transcription factor family	gene15391-v1.0-hybrid	Anthocyanin regulatory C1 protein (similar to)	0,00	0,15	0,11	0,00
27.3.25	RNA.regulation of transcription.MYB domain transcription factor family	gene25149-v1.0-hybrid	Myb-related protein 305 (similar to)	0,28	0,39	0,66	1,25
27.3.32	RNA.regulation of transcription.WRKY domain transcription factor family	gene05066-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 48 (similar to)	11,70	12,23	13,93	0,25
27.3.37	RNA.regulation of transcription.AS2,Lateral Organ Boundaries Gene Family	gene10300-v1.0-hybrid	LOB domain-containing protein 41 (AS2-like protein 38) (putative)	4,71	7,41	8,32	0,82
27.3.37	RNA.regulation of transcription.AS2,Lateral Organ Boundaries Gene Family	gene31797-v1.0-hybrid	Protein LATERAL ORGAN BOUNDARIES (AS2-like protein 4) (putative)	0,26	1,70	1,70	2,68
27.3.50	RNA.regulation of transcription.General Transcription	gene21193-v1.0-hybrid	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC4 (RNA polymerase III subunit C4) (probable)	1,24	0,88	0,81	-0,61
27.3.67	RNA.regulation of transcription.putative transcription regulator	gene08303-v1.0-hybrid	Protein BREAST CANCER SUSCEPTIBILITY 1 homolog (AtBRCA1) (probable)	1,42	1,00	1,09	-0,38

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
27.3.67	RNA.regulation of transcription.putative transcription regulator	gene10150-v1.0-hybrid	General transcription factor 3C polypeptide 5 (TFIIIC63) (probable)	0,34	0,48	0,54	0,68
27.3.99	RNA.regulation of transcription.unclassified	gene06924-v1.0-hybrid	Transcription termination factor, mitochondrial (mTERF), Precursor (probable)	2,01	1,46	1,78	-0,18
27.3.99	RNA.regulation of transcription.unclassified	gene18087-v1.0-hybrid	Putative mediator of RNA polymerase II transcription subunit 7 (probable)	1,30	1,79	2,24	0,79
27.3.99	RNA.regulation of transcription.unclassified	gene20570-v1.0-hybrid	Aspartic proteinase nepenthesin-1, Precursor (probable)	1,26	1,06	0,60	-1,08
27.3.99	RNA.regulation of transcription.unclassified	gene22045-v1.0-hybrid	Zinc finger A20 and AN1 domain-containing stress-associated protein 3 (AtSAP3) (probable)	18,40	12,54	13,10	-0,49
27.3.99	RNA.regulation of transcription.unclassified	gene24922-v1.0-hybrid	Transcription termination factor, mitochondrial (mTERF), Precursor (probable)	1,26	1,16	0,46	-1,44
27.3.99	RNA.regulation of transcription.unclassified	gene25243-v1.0-hybrid	mTERF domain-containing protein 1, mitochondrial, Precursor (probable)	1,05	1,61	1,50	0,52
27.3.99	RNA.regulation of transcription.unclassified	gene28749-v1.0-hybrid	Aspartic proteinase nepenthesin-2, Precursor (probable)	8,74	10,59	16,13	0,88
27.3.99	RNA.regulation of transcription.unclassified	gene30302-v1.0-hybrid	Aspartic proteinase nepenthesin-1, Precursor (probable)	3,02	0,96	2,01	-0,59
27.3.99	RNA.regulation of transcription.unclassified	gene30812-v1.0-hybrid	Probable translation initiation factor eIF-2B subunit epsilon Double-stranded RNA-specific adenosine deaminase (DRADA) (probable)	13,98	7,82	7,06	-0,99
27.4	RNA.RNA binding	gene24193-v1.0-hybrid	CUG-BP- and ETR-3-like factor 3-A (CELF-3A) (probable)	2,80	3,60	3,69	0,40
27.4	RNA.RNA binding	gene27781-v1.0-hybrid	Meiosis protein mei2 (similar to)	0,41	0,56	0,81	1,00
27.4	RNA.RNA binding	gene28709-v1.0-hybrid	Histone H4 (similar to)	3,82	4,12	6,33	0,73
28.1.3	DNA.synthesis/chromatin structure.histone	gene13821-v1.0-hybrid	DNA polymerase eta (probable)	3,93	6,46	8,33	1,08
28.2	DNA.repair	gene19961-v1.0-hybrid	DNA repair helicase UVH6 (AtUVH6) (putative)	0,23	0,14	0,14	-0,74
28.2	DNA.repair	gene27826-v1.0-hybrid	DNA polymerase I, thermostable (probable)	0,97	1,75	1,22	0,33
28.99	DNA.unspecified	gene25160-v1.0-hybrid		14,87	13,10	13,52	-0,14
29.1.10	protein.aa activation.methionine-tRNA ligase	gene28471-v1.0-hybrid	Methionyl-tRNA synthetase (MetRS) (probable)	1,28	1,45	1,70	0,41
29.1.14	protein.aa activation.glycine-tRNA ligase	gene23028-v1.0-hybrid	Glycyl-tRNA synthetase 1, mitochondrial (GlyRS 1), Precursor (similar to)	4,97	7,13	7,25	0,54
29.1.16	protein.aa activation.cysteine-tRNA ligase	gene11599-v1.0-hybrid	Cysteinyl-tRNA synthetase (CysRS) (probable)	1,54	2,04	2,48	0,69
29.2.1.1.1.53C	protein.synthesis.ribosomal protein.prokaryotic.chloroplast.30S subunit.S30A	gene12455-v1.0-hybrid	30S ribosomal protein 1, chloroplastic (PSRP-1), Precursor (putative)	9,46	8,32	8,89	-0,09
29.2.1.99.2.118	protein.synthesis.ribosomal protein.unknown.large subunit.L18/L5	gene09777-v1.0-hybrid	50S ribosomal protein L18 (probable)	1,98	1,31	1,51	-0,39
29.2.4	protein.synthesis.elongation	gene13367-v1.0-hybrid	Elongation factor 1-gamma (EF-1-gamma) (similar to)	17,68	20,22	20,91	0,24
29.2.4	protein.synthesis.elongation	gene23217-v1.0-hybrid	Elongation factor 1-alpha (EF-1-alpha)	358,75	409,34	444,20	0,31

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
29.3.2	protein.targeting.mitochondria	gene12631-v1.0-hybrid	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim17 (similar to)	11,09	9,18	5,12	-1,12
29.3.3	protein.targeting.chloroplast	gene19123-v1.0-hybrid	Cell division protein ftsY homolog (probable) overlaps bad segment [1253307,1253326]	0,81	0,92	3,52	2,11
29.4	protein.postranslational modification	gene09341-v1.0-hybrid	protein kinase kinase 4 (MAP kinase kinase 4) (similar to)	8,78	9,18	11,56	0,40
29.4	protein.postranslational modification	gene09523-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase AtPK19 (similar to)	32,43	26,23	29,97	-0,11
29.4	protein.postranslational modification	gene10007-v1.0-hybrid	Peptide methionine sulfoxide reductase (Peptide Met(O) reductase) (similar to)	35,56	30,10	20,47	-0,80
29.4	protein.postranslational modification	gene10008-v1.0-hybrid	Peptide methionine sulfoxide reductase (Peptide Met(O) reductase)	353,37	317,13	239,73	-0,56
29.4	protein.postranslational modification	gene13029-v1.0-hybrid	Probable protein phosphatase 2C 47 (AtPP2C47) (similar to)	2,15	1,75	1,40	-0,62
29.4	protein.postranslational modification	gene13619-v1.0-hybrid	Cell division control protein 2 homolog C (similar to)	8,13	6,63	5,75	-0,50
29.4	protein.postranslational modification	gene24519-v1.0-hybrid	Probable protein phosphatase 2C 49 (AtPP2C49) (putative)	5,26	5,74	8,41	0,68
29.4.1.57	protein.postranslational modification.kinase.receptor like cytoplasmatic kinase VII	gene21850-v1.0-hybrid	Probable receptor-like protein kinase At2g21480, Precursor (similar to)	2,02	1,58	1,52	-0,41
29.4.1.57	protein.postranslational modification.kinase.receptor like cytoplasmatic kinase VII	gene33825-v1.0-hybrid	Wall-associated receptor kinase-like 22, Precursor (similar to)	3,39	2,69	2,68	-0,34
29.5.9	protein.degradation.AAA type	gene17254-v1.0-hybrid	Vesicle-fusing ATPase (similar to)	1,83	2,56	2,73	0,58
29.5.9	protein.degradation.AAA type	gene17255-v1.0-hybrid	Vesicle-fusing ATPase (similar to)	2,51	3,66	3,61	0,52
29.5.9	protein.degradation.AAA type	gene30162-v1.0-hybrid	Vesicle-fusing ATPase (putative)	1,70	2,30	2,58	0,60
29.5.11.4.2	protein.degradation.ubiquitin.E3.RING	gene23620-v1.0-hybrid	RING-H2 finger protein ATL4E (probable)	2,16	1,55	1,61	-0,42
29.5.11.4.2	protein.degradation.ubiquitin.E3.RING	gene27006-v1.0-hybrid	RING-H2 finger protein ATL2I (probable)	215,64	153,51	108,56	-0,99
29.5.11.4.2	protein.degradation.ubiquitin.E3.RING	gene29064-v1.0-hybrid	U-box domain-containing protein 43 (probable)	1,06	1,28	1,98	0,90
29.5.11.4.3.1	protein.degradation.ubiquitin.E3.SCF.SK P	gene18503-v1.0-hybrid	SKP1-like protein 1A (SKP1-like 1) (probable)	360,53	450,83	477,00	0,40
29.5.11.4.3.2	protein.degradation.ubiquitin.E3.SCF.FB OX	gene01188-v1.0-hybrid	F-box protein At-B (probable)	3,84	4,66	4,59	0,26
29.5.11.4.3.2	protein.degradation.ubiquitin.E3.SCF.FB OX	gene12730-v1.0-hybrid	F-box/kelch-repeat protein At3g06240 (probable)	1,53	0,99	0,85	-0,84
29.5.11.20	protein.degradation.ubiquitin.proteasom	gene17254-v1.0-hybrid	Vesicle-fusing ATPase (similar to)	1,83	2,56	2,73	0,58
30.1	signalling in sugar and nutrient physiology	gene00427-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [583913,584291] Cysteine desulfurase 2, chloroplastic, Precursor (putative)	0,93	1,27	1,72	0,89

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
30.1	signalling.in sugar and nutrient physiology	gene02681-v1.0-hybrid	Glutamate receptor 2.8, Precursor (probable)	0,05	0,18	0,18	1,86
30.1	signalling.in sugar and nutrient physiology	gene25613-v1.0-hybrid	Glutamate receptor 2.8, Precursor (probable)	0,11	0,01	0,02	-2,70
30.2.11	signalling.receptor kinases.leucine rich repeat XI	gene00522-v1.0-hybrid	Polygalacturonase inhibitor (PGIG), Precursor (putative)	13,02	15,55	19,55	0,59
30.2.11	signalling.receptor kinases.leucine rich repeat XI	gene00581-v1.0-hybrid	Protein TOO MANY MOUTHS, Precursor (probable)	2,35	1,59	1,70	-0,47
30.2.11	signalling.receptor kinases.leucine rich repeat XI	gene03726-v1.0-hybrid	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570, Precursor	0,82	1,47	2,18	1,41
30.2.11	signalling.receptor kinases.leucine rich repeat XI	gene15806-v1.0-hybrid	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570, Precursor	0,18	0,42	0,32	0,84
30.2.11	signalling.receptor kinases.leucine rich repeat XI	gene24830-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase BRI1-like 2, Precursor (probable)	0,13	0,33	0,65	2,32
30.2.11	signalling.receptor kinases.leucine rich repeat XI	gene25898-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [210838,210857] hypothetical protein	0,18	0,32	0,37	1,04
30.2.11	signalling.receptor kinases.leucine rich repeat XI	gene25899-v1.0-hybrid	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GSO1, Precursor (probable)	0,14	0,34	0,28	1,06
30.2.11	signalling.receptor kinases.leucine rich repeat XI	gene26905-v1.0-hybrid	Receptor-like protein kinase HSL1, Precursor (probable)	3,90	4,31	6,17	0,66
30.2.11	signalling.receptor kinases.leucine rich repeat XI	gene27472-v1.0-hybrid	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase RCH1, Precursor (probable)	1,29	1,77	2,74	1,08
30.2.11	signalling.receptor kinases.leucine rich repeat XI	gene31212-v1.0-hybrid	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GSO1, Precursor (probable)	5,79	8,28	11,25	0,96
30.2.17	signalling.receptor kinases.DUF 26	gene30031-v1.0-hybrid	partial gene Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g56140, Precursor (similar to)	0,29	0,47	0,50	0,76
30.2.17	signalling.receptor kinases.DUF 26	gene30060-v1.0-hybrid	Putative serine/threonine-protein kinase receptor (SRK), Precursor (probable)	0,55	0,83	1,63	1,56
30.2.24	signalling.receptor kinases.S-locus glycoprotein like	gene20635-v1.0-hybrid	Putative receptor protein kinase ZmPK1, Precursor (probable)	0,14	0,42	0,68	2,25
30.2.24	signalling.receptor kinases.S-locus glycoprotein like	gene30060-v1.0-hybrid	Putative serine/threonine-protein kinase receptor (SRK), Precursor (probable)	0,55	0,83	1,63	1,56
30.2.25	signalling.receptor kinases.wall associated kinase	gene33825-v1.0-hybrid	Wall-associated receptor kinase-like 22, Precursor (similar to)	3,39	2,69	2,68	-0,34
30.3	signalling.calcium	gene03959-v1.0-hybrid	Centrin-1 (probable)	0,86	0,59	0,50	-0,76
30.3	signalling.calcium	gene29030-v1.0-hybrid	Putative calcium-transporting ATPase 13, plasma membrane-type	7,53	9,75	15,90	1,08
30.3	signalling.calcium	gene29031-v1.0-hybrid	Putative calcium-transporting ATPase 13, plasma membrane-type	0,82	1,23	2,15	1,40
30.3	signalling.calcium	gene30743-v1.0-hybrid	Caltractin (probable)	0,67	2,12	3,52	2,40
30.3	signalling.calcium	gene32288-v1.0-hybrid	Probable calcium-binding protein CML13 (putative)	1254,80	1241,67	915,48	-0,46
30.5	signalling.G-proteins	gene07653-v1.0-hybrid	Rac-like GTP-binding protein ARAC5, Precursor (similar to)	3,21	1,53	2,31	-0,47

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
30.5	signalling.G-proteins	gene15799-v1.0-hybrid	Ras-related protein Rab11D	14,37	10,12	12,12	-0,25
31.1	cell.organisation	gene11505-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [430103,432175] Kinesin-like protein KIF22 (probable)	1,00	0,79	0,88	-0,19
31.1	cell.organisation	gene19518-v1.0-hybrid	Plastid-lipid-associated protein, chloroplastic, Precursor (putative)	158,17	173,50	181,66	0,20
31.2	cell.division	gene26308-v1.0-hybrid	Probable E3 ubiquitin-protein ligase HERC1	1,00	1,30	1,25	0,33
33.2	development.late embryogenesis abundant	gene31867-v1.0-hybrid	Anthranilate phosphoribosyltransferase (probable)	85,45	114,72	174,72	1,03
33.3	development.squamosa promoter binding like (SPL)	gene01338-v1.0-hybrid	Squamosa promoter-binding-like protein 13 (probable)	33,20	25,33	29,42	-0,17
33.99	development.unspecified	gene05455-v1.0-hybrid	hypothetical protein	2,58	1,41	0,44	-2,56
33.99	development.unspecified	gene06311-v1.0-hybrid	Probable transporter MCH1	9,78	11,17	15,36	0,65
33.99	development.unspecified	gene11154-v1.0-hybrid	Auxin-induced protein SNG4 (probable)	6,68	9,44	12,27	0,88
33.99	development.unspecified	gene19647-v1.0-hybrid	Trans-aconitate 3-methyltransferase (probable)	34,95	29,16	30,67	-0,19
				24,78	30,03	29,12	0,23
33.99	development.unspecified	gene30439-v1.0-hybrid	NAC domain-containing protein 18 (ANAC018) (similar to)				
				9,67	11,54	14,31	0,57
34.2	transport.sugars	gene30425-v1.0-hybrid	Probable polyol transporter 4 (putative)				
				0,25	0,09	0,06	-2,03
34.4	transport.nitrate	gene03580-v1.0-hybrid	Nitrate transporter (probable)				
34.4	transport.nitrate	gene28461-v1.0-hybrid	Nitrate transporter (probable)	12,61	10,11	10,64	-0,25
34.7	transport.phosphate	gene07999-v1.0-hybrid	Probable anion transporter 1, chloroplastic, Precursor (similar to)	1,38	0,62	1,03	-0,43
34.8	transport.metabolite transporters at the envelope membrane	gene32199-v1.0-hybrid	Triose phosphate/phosphate translocator, non-green plastid, chloroplastic (CTPT), Precursor (similar to)	2,16	2,77	3,39	0,65
34.9	transport.metabolite transporters at the mitochondrial membrane	gene24828-v1.0-hybrid	Mitochondrial 2-oxoglutarate/malate carrier protein (OGCP) (probable)	1,11	1,71	1,40	0,34
34.9	transport.metabolite transporters at the mitochondrial membrane	gene26994-v1.0-hybrid	ADP/ATP carrier protein 1, mitochondrial (ANT 1), Precursor (similar to)	645,20	736,71	702,66	0,12
34.10	transport.nucleotides	gene12051-v1.0-hybrid	Purine permease 1 (AtPUP1) (similar to)	0,52	0,33	0,31	-0,78
34.12	transport.metal	gene19972-v1.0-hybrid	Zinc transporter 1, Precursor (similar to)	0,43	0,31	0,25	-0,78
34.12	transport.metal	gene23529-v1.0-hybrid	Zinc transporter 11, Precursor (similar to)	67,45	88,84	187,98	1,48
34.13	transport.peptides and oligopeptides	gene14288-v1.0-hybrid	Peptide transporter PTR1 (probable)	0,89	1,40	2,18	1,30
34.19.2	transport.Major Intrinsic Proteins.TIP	gene08914-v1.0-hybrid	Probable aquaporin TIP-type RB7-5A (similar to)	4,24	5,70	6,62	0,64

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1- 1 L10	RPKM de etr1- 1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
34.99	transport.misc	gene11129-v1.0-hybrid	Protein TRANSPARENT TESTA 12 (putative)	10,10	12,30	12,82	0,34
34.99	transport.misc	gene34015-v1.0-hybrid	Protein TRANSPARENT TESTA 12 (probable)	0,35	0,21	0,07	-2,31
35.1	not assigned.no ontology	gene11598-v1.0-hybrid	Heparanase-like protein 3, Precursor (similar to)	5,66	4,33	4,39	-0,37
35.1	not assigned.no ontology	gene15284-v1.0-hybrid	Putative syntaxin-24 (AtSYP24) (probable)	27,89	45,20	79,51	1,51
35.1	not assigned.no ontology	gene15364-v1.0-hybrid	DNA-directed RNA polymerase subunit beta (RNAP subunit beta) (probable)	0,92	0,82	0,32	-1,52
35.1	not assigned.no ontology	gene16373-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1620886,1620905] Importin-5 (Imp5) (probable)	1,90	1,50	1,24	-0,61
35.1	not assigned.no ontology	gene19212-v1.0-hybrid	Chitinase domain-containing protein 1, Precursor (probable)	5,87	6,17	12,26	1,06
35.1	not assigned.no ontology	gene22488-v1.0-hybrid	Pirin-like protein (putative)	15,53	12,09	13,99	-0,15
35.1	not assigned.no ontology	gene24889-v1.0-hybrid	F-box/kelch-repeat protein At5g48980 (probable)	33,09	20,56	26,04	-0,35
35.1	not assigned.no ontology	gene25940-v1.0-hybrid	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (probable)	19,30	18,17	14,99	-0,36
35.1	not assigned.no ontology	gene27922-v1.0-hybrid	L-2-hydroxyglutarate dehydrogenase, mitochondrial (Duranin), Precursor (probable)	1,80	2,56	2,99	0,73
35.1	not assigned.no ontology	gene28526-v1.0-hybrid	Probable gibberellin receptor Gid1L2	1,53	0,84	0,50	-1,61
35.1.5	ontology.pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein not assigned.no ontology.pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein	gene08788-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g25630 (putative)	6,10	7,45	7,96	0,39
35.1.5	ontology.pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein not assigned.no ontology.pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein	gene26435-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g09900 (putative)	2,17	1,68	1,70	-0,36
35.1.5	ontology.pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein not assigned.no ontology.pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein	gene27024-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g48730, chloroplastic, Precursor (similar to)	2,18	2,77	2,43	0,15
35.1.5	ontology.pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein not assigned.no ontology.pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein	gene30332-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1253409,1253428] Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g39710 (probable)	0,33	2,46	2,44	2,89
35.1.21	not assigned.no ontology.epsin N-terminal homology (ENTH) domain-containing protein not assigned.no ontology.glycine rich proteins	gene12033-v1.0-hybrid	Putative clathrin assembly protein At4g40080 (probable)	1,50	2,26	2,76	0,88
35.1.40	not assigned.unknown	gene05165-v1.0-hybrid	Glycoprotein G, Precursor (probable)	1,34	0,59	0,25	-2,41
35.2	not assigned.unknown	gene01070-v1.0-hybrid	Phytochrome kinase substrate 1 (probable)	0,02	0,13	0,17	2,98
35.2	not assigned.unknown	gene01761-v1.0-hybrid	hypothetical protein	34,01	24,30	19,24	-0,82
35.2	not assigned.unknown	gene01903-v1.0-hybrid	NADP-specific glutamate dehydrogenase (NADP-GDH)	1,38	2,16	1,74	0,34
35.2	not assigned.unknown	gene02265-v1.0-hybrid	Translation initiation factor IF-2 (probable)	1,24	1,99	2,18	0,82
35.2	not assigned.unknown	gene02371-v1.0-hybrid	50S ribosomal protein L15e (probable)	2,65	4,12	6,51	1,30
35.2	not assigned.unknown	gene02433-v1.0-hybrid	Extended synaptotagmin-3 (E-Syt3) (probable)	5,77	3,78	4,55	-0,34
35.2	not assigned.unknown	gene03199-v1.0-hybrid	Farnesyltransferase, Precursor (similar to)	8,40	8,04	3,87	-1,12
35.2	not assigned.unknown	gene03398-v1.0-hybrid	hypothetical protein	1,77	2,34	2,67	0,60
35.2	not assigned.unknown	gene03463-v1.0-hybrid	hypothetical protein	1,13	0,26	0,52	-1,11

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
35.2	not assigned.unknown	gene03680-v1.0-hybrid	Dihydropicolinate reductase (DHPR) (probable)	124,87	120,31	98,43	-0,34
				0,11	0,34	0,23	1,00
35.2	not assigned.unknown	gene04356-v1.0-hybrid	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (probable)				
35.2	not assigned.unknown	gene04764-v1.0-hybrid	(similar to)	0,01	0,52	0,56	5,24
35.2	not assigned.unknown	gene05088-v1.0-hybrid	Serine hydroxymethyltransferase (Serine methylase) (probable)	18,06	13,50	14,50	-0,32
35.2	not assigned.unknown	gene05138-v1.0-hybrid	Fasciculin-2 (Fas-2) (probable)	67,02	81,25	138,45	1,05
35.2	not assigned.unknown	gene05294-v1.0-hybrid	Dynamin-binding protein (probable)	1,14	0,78	0,94	-0,29
35.2	not assigned.unknown	gene06433-v1.0-hybrid	30S ribosomal protein S12 (probable)	0,08	0,46	0,15	0,96
35.2	not assigned.unknown	gene06657-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [448820,449221] Putative rRNA methyltransferase 3 (probable)	0,00	0,13	0,22	0,00
35.2	not assigned.unknown	gene06817-v1.0-hybrid	Forkhead box protein G1 (FoxG1) (probable)	11,35	8,76	5,66	-1,00
35.2	not assigned.unknown	gene06844-v1.0-hybrid	Putative glycine-rich cell wall structural protein 1, Precursor (similar to)	2,06	1,04	1,80	-0,20
35.2	not assigned.unknown	gene06892-v1.0-hybrid	BAT2 domain-containing protein 1 (probable)	1,86	3,58	3,25	0,81
35.2	not assigned.unknown	gene07531-v1.0-hybrid	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5 (similar to)	42,20	40,15	22,88	-0,88
35.2	not assigned.unknown	gene07691-v1.0-hybrid	Low-density lipoprotein receptor (LDL receptor) (probable)	1,31	0,82	0,69	-0,93
35.2	not assigned.unknown	gene07848-v1.0-hybrid	Kinesin-like protein KIF15 (probable)	0,31	0,71	0,70	1,20
35.2	not assigned.unknown	gene07852-v1.0-hybrid	Hydroxyethylthiazole kinase (Thz kinase) (probable)	0,39	1,33	2,79	2,83
35.2	not assigned.unknown	gene08057-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [588745,588764] F-box only protein 5-B (probable)	2,49	1,11	1,25	-0,99
35.2	not assigned.unknown	gene08613-v1.0-hybrid	WD repeat-containing protein 26 homolog (probable)	17,20	14,71	14,32	-0,26
35.2	not assigned.unknown	gene08806-v1.0-hybrid	Putative hydrolase ytaP (probable)	0,64	0,90	1,09	0,78
35.2	not assigned.unknown	gene08961-v1.0-hybrid	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX59	0,20	0,27	0,29	0,56
35.2	not assigned.unknown	gene09240-v1.0-hybrid	Probable basic-leucine zipper transcription factor N	1,19	0,88	0,48	-1,33
35.2	not assigned.unknown	gene09416-v1.0-hybrid	Pre-mRNA-splicing factor SPF27 (probable)	6,80	7,82	7,39	0,12
35.2	not assigned.unknown	gene09759-v1.0-hybrid	Probable calcium-binding protein CML27 (similar to)	1,30	0,33	0,11	-3,56
35.2	not assigned.unknown	gene09937-v1.0-hybrid	Alcohol dehydrogenase [acceptor], Precursor (probable)	0,80	0,36	0,25	-1,70
35.2	not assigned.unknown	gene10054-v1.0-hybrid	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit beta-3 (CAB3) (probable)	0,70	0,51	0,47	-0,59
35.2	not assigned.unknown	gene10617-v1.0-hybrid	Indole-3-acetic acid-induced protein ARG2 (probable)	49,02	52,10	83,53	0,77
35.2	not assigned.unknown	gene10650-v1.0-hybrid	XK-related protein 5 (probable)	3,13	0,86	1,84	-0,77
35.2	not assigned.unknown	gene10918-v1.0-hybrid	Large proline-rich protein BAT2 (probable)	0,78	0,43	0,11	-2,88
35.2	not assigned.unknown	gene11476-v1.0-hybrid	hypothetical protein	1,21	2,88	3,66	1,60
35.2	not assigned.unknown	gene11717-v1.0-hybrid	DNA-binding protein creA (probable)	10,04	17,09	34,92	1,80
35.2	not assigned.unknown	gene11777-v1.0-hybrid	Peroxidase 42 (Atperox P42), Precursor (probable)	0,21	0,74	1,15	2,47
35.2	not assigned.unknown	gene11813-v1.0-hybrid	Sterol O-acyltransferase 2 (ACAT-2) (probable)	5,95	8,06	12,25	1,04
35.2	not assigned.unknown	gene12122-v1.0-hybrid	hypothetical protein	5,01	2,14	1,87	-1,42
35.2	not assigned.unknown	gene12409-v1.0-hybrid	Fibrocystin-L (PKHD1-like protein 1), Precursor (probable)	75,22	65,89	68,18	-0,14
35.2	not assigned.unknown	gene12429-v1.0-hybrid	Titin (probable)	5,60	3,59	3,40	-0,72

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
35.2	not assigned.unknown	gene12975-v1.0-hybrid	Protein TIFY 3B (probable)	34,99	27,79	31,57	-0,15
35.2	not assigned.unknown	gene13417-v1.0-hybrid	Translation initiation factor IF-2 (probable)	24,15	26,22	59,21	1,29
35.2	not assigned.unknown	gene14094-v1.0-hybrid	Auxin response factor 15 (probable)	0,41	1,09	5,13	3,64
35.2	not assigned.unknown	gene14132-v1.0-hybrid	Keratin, type I cytoskeletal 18 (CK-18) (probable)	15,93	10,17	13,91	-0,20
35.2	not assigned.unknown	gene14190-v1.0-hybrid	Ethylene-responsive transcription factor ABI4 (ERF ABI4) (probable)	0,17	0,06	0,04	-2,17
35.2	not assigned.unknown	gene14308-v1.0-hybrid	Putative disease resistance RPP13-like protein 1 (probable)	1,14	0,62	0,47	-1,28
35.2	not assigned.unknown	gene14463-v1.0-hybrid	RecQ-mediated genome instability protein 2 (probable)	1,87	0,55	0,78	-1,26
35.2	not assigned.unknown	gene14513-v1.0-hybrid	Protein disulfide-isomerase 2 (PDI2), Precursor (probable)	2,27	1,86	1,68	-0,44
35.2	not assigned.unknown	gene14629-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2642090,2642109] Probable serine/threonine-protein kinase CG32666 (similar to)	0,21	0,54	3,60	4,11
35.2	not assigned.unknown	gene14645-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1548608,1549153] POU domain, class 3, transcription factor 3 (Brain-1) (probable)	11,35	9,23	9,29	-0,29
35.2	not assigned.unknown	gene14861-v1.0-hybrid	Glutamate receptor 1, Precursor (probable)	1,92	0,99	0,72	-1,41
35.2	not assigned.unknown	gene14946-v1.0-hybrid	Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase (probable)	7,26	9,15	8,51	0,23
35.2	not assigned.unknown	gene15580-v1.0-hybrid	F-box/LRR-repeat protein At3g58900 (probable)	0,15	0,41	0,68	2,13
35.2	not assigned.unknown	gene15670-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase MRCK gamma (MRCK gamma) (probable)	0,24	0,39	1,17	2,30
35.2	not assigned.unknown	gene15690-v1.0-hybrid	hypothetical protein	125,40	107,67	116,68	-0,10
35.2	not assigned.unknown	gene15705-v1.0-hybrid	50S ribosomal protein L6P (probable)	29,33	47,06	96,76	1,72
35.2	not assigned.unknown	gene15815-v1.0-hybrid	Cornifin-A (SPR1A) (probable)	0,11	0,28	0,26	1,27
35.2	not assigned.unknown	gene15858-v1.0-hybrid	hypothetical protein	2,58	0,90	1,67	-0,63
35.2	not assigned.unknown	gene16159-v1.0-hybrid	Protein PNS1 (probable)	0,42	1,69	0,94	1,16
35.2	not assigned.unknown	gene16396-v1.0-hybrid	DNA ligase 1 (probable)	0,05	0,18	0,23	2,17
35.2	not assigned.unknown	gene17091-v1.0-hybrid	hypothetical protein	56,30	32,39	41,46	-0,44
35.2	not assigned.unknown	gene17345-v1.0-hybrid	Phosphoenolpyruvate carboxylase 1 (PEPCase 1) (probable)	86,08	71,29	55,03	-0,65
35.2	not assigned.unknown	gene17767-v1.0-hybrid	protein binding / zinc ion binding (probable)	6,42	4,31	3,80	-0,76
35.2	not assigned.unknown	gene17963-v1.0-hybrid	AN1-type zinc finger protein (probable)	1,42	0,82	1,12	-0,34
35.2	not assigned.unknown	gene18065-v1.0-hybrid	Serine/arginine repetitive matrix protein 2 (Ser/Arg-related nuclear matrix protein) (probable)	4,82	6,34	5,37	0,16
35.2	not assigned.unknown	gene18316-v1.0-hybrid	Extracellular sulfatase SULF-1 homolog (DmSulf-1), Precursor (probable)	1,48	28,75	20,42	3,78

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
35.2	not assigned.unknown	gene18328-v1.0-hybrid	Ski oncogene (similar to)	16,07	19,87	18,70	0,22
35.2	not assigned.unknown	gene19187-v1.0-hybrid	Golgi reassembly-stacking protein 1 (GRASP65) (probable)	7,28	5,99	6,28	-0,21
35.2	not assigned.unknown	gene19628-v1.0-hybrid	Polyphenol oxidase, chloroplastic (PPO), Precursor (probable)	0,30	0,51	0,71	1,23
35.2	not assigned.unknown	gene19764-v1.0-hybrid	Keratin-associated protein 5-7 (probable)	4,19	2,29	2,48	-0,76
35.2	not assigned.unknown	gene19834-v1.0-hybrid	Taste receptor type 2 member 105 (T2R105) (probable)	1,46	0,77	0,63	-1,21
35.2	not assigned.unknown	gene20154-v1.0-hybrid	Collagen alpha-1(III) chain (probable)	8,15	13,63	21,38	1,39
			Exodeoxyribonuclease 7 large subunit (Exonuclease VII large subunit) (probable)	0,35	0,00	0,06	-2,61
35.2	not assigned.unknown	gene20164-v1.0-hybrid					
35.2	not assigned.unknown	gene20706-v1.0-hybrid	Probable cytoplasmic aconitate hydratase (Aconitase)	1,43	1,09	0,68	-1,07
35.2	not assigned.unknown	gene20765-v1.0-hybrid	Putative ribonuclease H protein At1g65750 (probable)	0,10	2,36	18,37	7,59
			FYVE, RhoGEF and PH domain-containing protein 1 (Rho/Rac GEF) (probable)	104,23	69,97	77,07	-0,44
35.2	not assigned.unknown	gene21349-v1.0-hybrid					
35.2	not assigned.unknown	gene21512-v1.0-hybrid	Regulatory protein E2 (probable)	1,71	1,21	1,28	-0,42
35.2	not assigned.unknown	gene22030-v1.0-hybrid	conserved hypothetical protein	149,33	132,06	106,88	-0,48
35.2	not assigned.unknown	gene22062-v1.0-hybrid	Myosin-VIb (probable)	0,90	4,16	5,66	2,65
35.2	not assigned.unknown	gene22274-v1.0-hybrid	Negative elongation factor A (probable)	1,49	0,70	0,62	-1,26
35.2	not assigned.unknown	gene22606-v1.0-hybrid	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 28 (probable)	0,29	1,52	1,72	2,56
35.2	not assigned.unknown	gene22736-v1.0-hybrid	Dipeptidyl-peptidase 1 light chain, Precursor (probable)	0,86	0,25	0,32	-1,41
			Late embryogenesis abundant protein D-29 (LEA D-29) (probable)	3,12	2,39	1,24	-1,33
35.2	not assigned.unknown	gene22805-v1.0-hybrid					
35.2	not assigned.unknown	gene23236-v1.0-hybrid	Transcription factor Sox-11-A (xSox-11) (probable)	0,02	0,38	0,21	3,50
35.2	not assigned.unknown	gene24239-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [108115,108364] Enolase (probable)	0,02	0,26	0,43	4,68
35.2	not assigned.unknown	gene24371-v1.0-hybrid	Pyridoxine kinase (probable)	0,36	0,00	0,09	-2,02
35.2	not assigned.unknown	gene24584-v1.0-hybrid	Peptide chain release factor 1 (RF-1) (probable)	0,47	0,10	0,17	-1,49
35.2	not assigned.unknown	gene24820-v1.0-hybrid	Transcription repressor MYB5 (AtMYB5) (similar to)	168,17	166,20	112,70	-0,58
35.2	not assigned.unknown	gene25206-v1.0-hybrid	Arginine-glutamic acid dipeptide repeats protein (probable)	0,00	0,53	0,52	0,00
35.2	not assigned.unknown	gene25227-v1.0-hybrid	Choline dehydrogenase (CHD) (probable)	3,57	2,09	2,42	-0,56
35.2	not assigned.unknown	gene25420-v1.0-hybrid	Alanyl-tRNA synthetase (AlaRS) (similar to)	70,25	62,51	48,24	-0,54
			Microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 3 (probable)	0,31	0,18	0,18	-0,77
35.2	not assigned.unknown	gene25540-v1.0-hybrid					
35.2	not assigned.unknown	gene25796-v1.0-hybrid	UPF0139 membrane protein At5g07960 (putative)	42,59	37,79	28,19	-0,60
			overlaps bad segment [278908,278927] Nck-associated protein 1 homolog (probable)	6,46	4,90	3,47	-0,90
35.2	not assigned.unknown	gene25994-v1.0-hybrid					
35.2	not assigned.unknown	gene26277-v1.0-hybrid	Probable carbohydrate esterase At4g34215 (similar to)	36,39	32,26	27,22	-0,42
35.2	not assigned.unknown	gene26287-v1.0-hybrid	Mediator of DNA damage checkpoint protein 1 (probable)	0,00	0,65	0,45	0,00
35.2	not assigned.unknown	gene26988-v1.0-hybrid	Phospholipase A2-like protein Y52B11A.8, Precursor (probable)	54,43	67,19	57,62	0,08
35.2	not assigned.unknown	gene27143-v1.0-hybrid	DNA polymerase processivity factor (PAP) (probable)	3,71	2,15	1,55	-1,26
35.2	not assigned.unknown	gene27177-v1.0-hybrid	Serine/arginine repetitive matrix protein 1 (probable)	0,39	0,59	0,49	0,33
35.2	not assigned.unknown	gene27404-v1.0-hybrid	Pair-rule protein odd-paired (probable)	1,22	0,87	0,78	-0,64
35.2	not assigned.unknown	gene28079-v1.0-hybrid	Pair-rule protein odd-paired (probable)	2,52	0,84	1,42	-0,83
35.2	not assigned.unknown	gene28315-v1.0-hybrid	Translation initiation factor IF-2 (probable)	0,72	0,55	0,09	-2,96
35.2	not assigned.unknown	gene28496-v1.0-hybrid	Glucose and ribitol dehydrogenase (similar to)	0,27	0,02	0,02	-3,56

BinCode	BinName	ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12	Log2 fold change etr1-1 L12
35.2	not assigned.unknown	gene28609-v1.0-hybrid	50S ribosomal protein L9 (probable)	1,38	0,66	1,08	-0,35
35.2	not assigned.unknown	gene28624-v1.0-hybrid	Alanyl-tRNA synthetase (AlaRS) (probable)	2,12	1,14	0,87	-1,29
				203,62	596,22	985,19	2,28
35.2	not assigned.unknown	gene28866-v1.0-hybrid	Splicing factor, arginine/serine-rich 15 (probable)				
				11,79	7,87	8,95	-0,40
			overlaps bad segment [434791,434810] NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2 (similar to)				
35.2	not assigned.unknown	gene28922-v1.0-hybrid	oxidoreductase chain 2 (similar to)				
35.2	not assigned.unknown	gene29002-v1.0-hybrid	RNA-binding protein sym-2 (probable)	0,38	1,02	1,00	1,40
35.2	not assigned.unknown	gene29123-v1.0-hybrid	Coiled-coil domain-containing protein 82 (probable)	0,21	1,79	0,54	1,34
35.2	not assigned.unknown	gene29318-v1.0-hybrid	Receptor tyrosine-protein kinase let-23, Precursor (probable)	7,60	17,92	15,68	1,05
35.2	not assigned.unknown	gene29457-v1.0-hybrid	PolyI-tRNA synthetase (ProRS) (probable)	2,83	1,36	1,92	-0,56
35.2	not assigned.unknown	gene29849-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,08	1,21	1,37	4,03
35.2	not assigned.unknown	gene30423-v1.0-hybrid	Peroxisome biogenesis factor 10 (AthPEX10) (probable)	0,23	0,05	0,02	-3,31
35.2	not assigned.unknown	gene30433-v1.0-hybrid	Polyphenol oxidase, chloroplastic (PPO), Precursor (putative)	1,55	0,65	0,38	-2,02
35.2	not assigned.unknown	gene30447-v1.0-hybrid	Putative 3-methyladenine DNA glycosylase (probable)	7,42	6,11	5,10	-0,54
35.2	not assigned.unknown	gene30531-v1.0-hybrid	Amidase (probable)	0,11	0,44	0,55	2,28
35.2	not assigned.unknown	gene30611-v1.0-hybrid	30S ribosomal protein S5 (probable)	0,36	0,12	0,19	-0,92
35.2	not assigned.unknown	gene31157-v1.0-hybrid	Transcription factor SOX-3 (probable)	102,42	109,53	104,84	0,03
35.2	not assigned.unknown	gene31533-v1.0-hybrid	Heat shock protein ST11 (probable)	0,75	0,82	1,09	0,54
35.2	not assigned.unknown	gene31608-v1.0-hybrid	Transcriptional corepressor LEUNIG (probable)	1,21	0,58	0,11	-3,40
35.2	not assigned.unknown	gene31864-v1.0-hybrid	Anthranilate phosphoribosyltransferase (probable)	43,07	49,94	75,81	0,82
			overlaps bad segment [1971770,1971789] Trichohyalin (probable)				
35.2	not assigned.unknown	gene31869-v1.0-hybrid	(probable)	0,24	0,77	1,19	2,34
			Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A (Glu-ADT subunit A) (probable)				
35.2	not assigned.unknown	gene31896-v1.0-hybrid	subunit A) (probable)	4,52	2,82	2,59	-0,80
35.2	not assigned.unknown	gene32218-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 2U1 (probable)	1,62	1,80	1,99	0,30
35.2	not assigned.unknown	gene32499-v1.0-hybrid	Protein MSB2 (probable)	0,33	0,57	0,81	1,30
35.2	not assigned.unknown	gene34490-v1.0-hybrid	Putative B3 domain-containing protein At5g58280 (probable)	0,18	0,28	0,29	0,72
35.2	not assigned.unknown	gene34836-v1.0-hybrid	Trithorax group protein osa (similar to)	0,00	1,48	10,80	0,00
35.2	not assigned.unknown	gene35035-v1.0-hybrid	hypothetical protein	5,44	3,47	4,08	-0,41
			DNA-directed RNA polymerase subunit beta (RNA polymerase subunit beta) (similar to)				
35.2	not assigned.unknown	gene35071-v1.0-hybrid	subunit beta) (similar to)	0,36	0,41	0,69	0,91
35.2	not assigned.unknown	gene35123-v1.0-hybrid	Zinc finger protein 423 (probable)	0,32	0,71	0,53	0,75



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Anexos:

Tabla 1. Análisis de RNA-seq de las plantas e *tr1-1* Línea 10 y Línea 12 en receptáculo en estadio intermedio.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Tabla 1. Genes diferencialmente expresados de las Línea *etr1-1* L10 , línea *etr1-1* L12 en comparación con el control. En azul se encuentran los genes diferencialmente expresados con un p-value de 0.05% de la línea 10. En verde se encuentran los genes diferencialmente expresados con un p-value de 0.05% para la L12. Se realizó una prueba de t-test con tres réplicas biológicas para cada muestra.

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de <i>etr1-1</i> L10	RPKM de <i>etr1-1</i> L12
gene01897-v1.0-hybrid	Embryogenesis-associated protein EMB8 (similar to)	40,32	26,96	22,61
gene02148-v1.0-hybrid	Caffeoyl-CoA O-methyltransferase (CCoAOMT)	101,17	90,62	86,72
gene02371-v1.0-hybrid	50S ribosomal protein L15e (probable)	2,65	4,12	6,51
gene02681-v1.0-hybrid	Glutamate receptor 2.8, Precursor (probable)	0,05	0,18	0,18
gene03398-v1.0-hybrid	hypothetical protein	1,77	2,34	2,67
gene03580-v1.0-hybrid	Nitrate transporter (probable)	0,25	0,09	0,06
gene03959-v1.0-hybrid	Centrin-1 (probable)	0,86	0,59	0,50
gene04764-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [6104,6123] Syntaxin-71 (AtSYP71) (similar to)	0,01	0,52	0,56
gene05165-v1.0-hybrid	Glycoprotein G, Precursor (probable)	1,34	0,59	0,25
gene05846-v1.0-hybrid	Acyl-protein thioesterase 2 (APT-2) (probable)	0,21	0,07	0,10
gene07455-v1.0-hybrid	ATP-dependent RNA helicase SUPV3L1, mitochondrial, Precursor (probable)	8,76	17,05	17,20
gene08057-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [588745,588764] F-box only protein 5-B (probable)	2,49	1,11	1,25
gene09416-v1.0-hybrid	Pre-mRNA-splicing factor SPF27 (probable)	6,80	7,82	7,39
gene09759-v1.0-hybrid	Probable calcium-binding protein CML27 (similar to)	1,30	0,33	0,11
gene09937-v1.0-hybrid	Alcohol dehydrogenase [acceptor], Precursor (probable)	0,80	0,36	0,25
gene10161-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [670195,671167] 6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase, chloroplastic (DMRL synthase), Precursor (similar to)	4,79	3,89	3,57
gene10300-v1.0-hybrid	LOB domain-containing protein 41 (AS2-like protein 38) (putative)	4,71	7,41	8,32
gene11777-v1.0-hybrid	Peroxidase 42 (Atperox P42), Precursor (probable)	0,21	0,74	1,15
gene11810-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1139697,1139746] Basic blue protein (similar to)	1,32	0,64	0,21
gene12033-v1.0-hybrid	Putative clathrin assembly protein At4g40080 (probable)	1,50	2,26	2,76
gene12122-v1.0-hybrid	hypothetical protein	5,01	2,14	1,87
gene12429-v1.0-hybrid	Titin (probable)	5,60	3,59	3,40
gene12730-v1.0-hybrid	F-box/kelch-repeat protein At3g06240 (probable)	1,53	0,99	0,85
gene13619-v1.0-hybrid	Cell division control protein 2 homolog C (similar to)	8,13	6,63	5,75
gene14288-v1.0-hybrid	Peptide transporter PTR1 (probable)	0,89	1,40	2,18
gene14645-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1548608,1549153] POU domain, class 3, transcription factor 3 (Brain-1) (probable)	11,35	9,23	9,29
gene15284-v1.0-hybrid	Putative syntaxin-24 (AtSYP24) (probable)	27,89	45,20	79,51
gene15992-v1.0-hybrid	Glycerol kinase (GK) (probable)	2,26	0,53	0,54
gene16373-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1620886,1620905] Importin-5 (Imp5) (probable)	1,90	1,50	1,24
gene16396-v1.0-hybrid	DNA ligase 1 (probable)	0,05	0,18	0,23
gene17767-v1.0-hybrid	protein binding / zinc ion binding (probable)	6,42	4,31	3,80

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene18316-v1.0-hybrid	Extracellular sulfatase SULF-1 homolog (DmSulf-1), Precursor (probable)	1,48	28,75	20,42
gene19672-v1.0-hybrid	Hemoglobin-2 (putative)	4,34	2,59	2,65
gene19764-v1.0-hybrid	Keratin-associated protein 5-7 (probable)	4,19	2,29	2,48
gene20635-v1.0-hybrid	Putative receptor protein kinase ZmPK1, Precursor (probable)	0,14	0,42	0,68
gene20765-v1.0-hybrid	Putative ribonuclease H protein At1g65750 (probable)	0,10	2,36	18,37
gene21595-v1.0-hybrid	Heat shock 70 kDa protein (similar to)	0,23	1,20	1,36
gene21850-v1.0-hybrid	Probable receptor-like protein kinase At2g21480, Precursor (similar to)	2,02	1,58	1,52
gene22045-v1.0-hybrid	Zinc finger A20 and AN1 domain-containing stress-associated protein 3 (AtSAP3) (probable)	18,40	12,54	13,10
gene22062-v1.0-hybrid	Myosin-VIIb (probable)	0,90	4,16	5,66
gene22606-v1.0-hybrid	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 28 (probable)	0,29	1,52	1,72
gene22736-v1.0-hybrid	Dipeptidyl-peptidase 1 light chain, Precursor (probable)	0,86	0,25	0,32
gene22950-v1.0-hybrid	Rhcadhesin receptor, Precursor (putative)	78,97	86,72	70,54
gene23236-v1.0-hybrid	Transcription factor Sox-11-A (xSox-11) (probable)	0,02	0,38	0,21
gene24239-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [108115,108364] Enolase (probable)	0,02	0,26	0,43
gene24584-v1.0-hybrid	Peptide chain release factor 1 (RF-1) (probable)	0,47	0,10	0,17
gene24828-v1.0-hybrid	Mitochondrial 2-oxoglutarate/malate carrier protein (OGCP) (probable)	1,11	1,71	1,40
gene24830-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase BRIT-like 2, Precursor (probable)	0,13	0,33	0,65
gene25206-v1.0-hybrid	Arginine-glutamic acid dipeptide repeats protein (probable)	0,00	0,53	0,52
gene25227-v1.0-hybrid	Choline dehydrogenase (CHD) (probable)	3,57	2,09	2,42
gene25540-v1.0-hybrid	Microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 3 (probable)	0,31	0,18	0,18
gene25613-v1.0-hybrid	Glutamate receptor 2.8, Precursor (probable)	0,11	0,01	0,02
gene25898-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [210838,210857] hypothetical protein	0,18	0,32	0,37
gene25899-v1.0-hybrid	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GSO1, Precursor (probable)	0,14	0,34	0,28
gene26287-v1.0-hybrid	Mediator of DNA damage checkpoint protein 1 (probable)	0,00	0,65	0,45
gene26570-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (probable)	0,38	0,00	0,08
gene27177-v1.0-hybrid	Serine/arginine repetitive matrix protein 1 (probable)	0,39	0,59	0,49
gene28496-v1.0-hybrid	Glucose and ribitol dehydrogenase (similar to)	0,27	0,02	0,02
gene28526-v1.0-hybrid	Probable gibberellin receptor GID1L2	1,53	0,84	0,50
gene28624-v1.0-hybrid	Alanyl-tRNA synthetase (AlaRS) (probable)	2,12	1,14	0,87
gene28866-v1.0-hybrid	Splicing factor, arginine/serine-rich 15 (probable)	203,62	596,22	988,19

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene29002-v1.0-hybrid	RNA-binding protein sym-2 (probable)	0,38	1,02	1,00
gene29318-v1.0-hybrid	Receptor tyrosine-protein kinase let-23, Precursor (probable)	7,60	17,92	15,68
gene30162-v1.0-hybrid	Vesicle-fusing ATPase (putative)	1,70	2,30	2,58
gene30332-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1253409,1253428] Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g39710 (probable)	0,33	2,46	2,44
gene30423-v1.0-hybrid	Peroxisome biogenesis factor 10 (AthPEX10) (probable)	0,23	0,05	0,02
gene30433-v1.0-hybrid	Polyphenol oxidase, chloroplastic (PPO), Precursor (putative)	1,55	0,65	0,38
gene30447-v1.0-hybrid	Putative 3-methyladenine DNA glycosylase (probable)	7,42	6,11	5,10
gene30812-v1.0-hybrid	Probable translation initiation factor eIF-2B subunit epsilon	13,98	7,82	7,06
gene34836-v1.0-hybrid	Trithorax group protein osa (similar to)	0,00	1,48	10,80
gene16611-v1.0-hybrid	Probable pectate lyase 8, Precursor (similar to)	0,07	0,01	0,00
gene21103-v1.0-hybrid	Ethylene receptor (similar to)	1,22	0,53	3,38
gene00285-v1.0-hybrid	1-phosphatidylinositol-3-phosphate 5-kinase FAB1 (Phosphatidylinositol-3-phosphate 5-kinase) (probable)	0,20	0,00	0,00
gene00347-v1.0-hybrid	Putative transmembrane protein ORF1334 (probable)	0,48	0,00	0,00
gene00444-v1.0-hybrid	Meteorin, Precursor (probable)	0,04	0,01	0,00
gene00543-v1.0-hybrid	Alpha-keto-acid decarboxylase (KDC) (probable)	0,00	0,07	0,09
gene01038-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,98	1,45	0,46
gene06553-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,22	0,00	0,00
gene08142-v1.0-hybrid	Mitochondrial ribonuclease P protein 1 (Mitochondrial RNase P protein 1), Precursor (probable)	0,00	0,16	0,19
gene09068-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2324172,2324553] Patatin-05, Precursor (similar to)	0,00	0,12	0,06
gene09850-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [376799,380972] hypothetical protein	0,04	0,02	0,01
gene09866-v1.0-hybrid	Endonuclease (probable)	0,03	0,01	0,01
gene12986-v1.0-hybrid	Nodulin-21 (N-21) (probable)	0,28	0,05	0,09
gene13415-v1.0-hybrid	Putative DNA-binding protein ESCAROLA (probable)	0,11	0,01	0,06
gene13793-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [3025918,3025937] LIM domain-containing protein A (probable)	0,10	0,03	0,04
gene14746-v1.0-hybrid	Laccase-11, Precursor (putative)	0,00	0,07	0,09
gene14794-v1.0-hybrid	Latent-transforming growth factor beta-binding protein 1 (LTBP-1), Precursor (probable)	0,19	0,04	0,08
gene15011-v1.0-hybrid	Coiled-coil domain-containing protein 102A (probable)	0,59	0,73	0,34
gene15055-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 82A3 (probable)	0,22	0,31	0,31
gene15224-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1183804,1183823] Protein held out wings (probable)	0,04	0,39	0,31
gene15380-v1.0-hybrid	Protein FAM64A (probable)	0,12	0,02	0,02

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene17277-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,50	0,07	0,00
gene17793-v1.0-hybrid	Rac-like GTP-binding protein RAC2, Precursor (similar to)	0,00	0,14	0,21
gene19070-v1.0-hybrid	DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 8 (putative)	0,25	0,15	0,17
gene19884-v1.0-hybrid	Probable glycerophosphoryl diester phosphodiesterase 2, Precursor (similar to)	0,74	0,40	1,08
gene20248-v1.0-hybrid	DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 40 (similar to)	0,05	0,02	0,02
gene20644-v1.0-hybrid	Probable lipoxygenase 8, chloroplastic, Precursor (similar to)	0,20	0,14	0,30
gene25305-v1.0-hybrid	Protein very KIND (probable)	0,00	0,12	0,18
gene25475-v1.0-hybrid	Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A (Glu-ADT subunit A) (probable)	4,36	1,47	9,48
gene26614-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [489823,489842] Heat shock cognate 70 kDa protein (similar to)	1,77	1,40	2,31
gene26749-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [351679,351698] Probable lipoxygenase 8, chloroplastic, Precursor (similar to)	0,05	0,01	0,07
gene26999-v1.0-hybrid	Telomerase reverse transcriptase (probable)	0,01	0,05	0,08
gene27124-v1.0-hybrid	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating], mitochondrial (MMSDH), Precursor (similar to)	0,10	0,05	0,05
gene27146-v1.0-hybrid	Secologanin synthase (SLS) (similar to)	0,06	0,00	0,00
gene27186-v1.0-hybrid	F-box protein At4g12560 (probable)	0,17	0,00	0,03
gene28253-v1.0-hybrid	Centrosomal protein of 192 kDa (Cep192) (probable)	0,14	0,04	0,04
gene28608-v1.0-hybrid	Dephospho-CoA kinase (probable)	0,12	0,05	0,08
gene28611-v1.0-hybrid	Probable gibberellin receptor GID1L2	0,44	0,33	0,60
gene28678-v1.0-hybrid	Cytokinin-O-glucosyltransferase 2 (AtZOG2) (similar to)	0,18	0,07	0,04
gene29039-v1.0-hybrid	37 kDa inner envelope membrane protein, chloroplastic, Precursor (putative)	7,24	6,44	7,73
gene29356-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [200720,201048] Cycloartenol-C-24-methyltransferase (Sterol C-methyltransferase 1) (putative)	3,90	2,67	5,58
gene29406-v1.0-hybrid	Elongation factor G (EF-G) (probable)	0,28	0,00	0,00
gene30559-v1.0-hybrid	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase ((1->3)-beta-glucanase), Precursor (probable)	0,06	0,00	0,00
gene30753-v1.0-hybrid	Putative serine/threonine-protein kinase receptor (SRK), Precursor (probable)	1,47	1,08	3,37
gene31294-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [65278,65947] Putative protein TPRXL (probable)	0,16	0,07	0,07
gene34081-v1.0-hybrid	Anthranilate N-benzoyltransferase protein 1 (probable)	0,22	0,00	0,00
gene34566-v1.0-hybrid	Transcription factor A, mitochondrial, Precursor (probable)	0,00	0,09	0,19
gene34674-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1089189,1089208] Protein FAR1-RELATED SEQUENCE 5 (probable)	0,01	0,00	0,00
gene34892-v1.0-hybrid	Endonuclease (probable)	0,03	0,11	0,37

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene00095-v1.0-hybrid	Cytokinin-O-glucosyltransferase 1 (AtZOG1) (probable)	6,17	3,50	2,52
gene00427-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [583913,584291] Cysteine desulfurase 2, chloroplastic, Precursor (putative)	0,93	1,27	1,72
gene00522-v1.0-hybrid	Polygalacturonase inhibitor (PGIG), Precursor (putative)	13,02	15,55	19,55
gene00661-v1.0-hybrid	Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 33 (AtXTH33), Precursor (putative)	16,83	20,35	44,87
gene00806-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 86A2 (probable)	11,07	15,33	17,23
gene01070-v1.0-hybrid	Phytochrome kinase substrate 1 (probable)	0,02	0,13	0,17
gene01188-v1.0-hybrid	F-box protein At-B (probable)	3,84	4,66	4,59
gene01202-v1.0-hybrid	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase (ACC oxidase) (similar to)	142,00	151,84	205,60
gene01374-v1.0-hybrid	GEM-like protein 5 (similar to)	27,13	34,34	55,87
gene01539-v1.0-hybrid	Peroxidase 35 (Atperox P35), Precursor (putative)	24,48	46,48	34,74
gene01761-v1.0-hybrid	hypothetical protein	34,01	24,30	19,24
gene01896-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 78A3 (putative)	44,80	38,34	25,28
gene02265-v1.0-hybrid	Translation initiation factor IF-2 (probable)	1,24	1,99	2,18
gene03043-v1.0-hybrid	Heat shock cognate 70 kDa protein 2 (Hsc70.2) (similar to)	180,90	207,41	252,76
gene03680-v1.0-hybrid	Dihydrodipicolinate reductase (DHPR) (probable)	124,87	120,31	98,43
gene03726-v1.0-hybrid	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570, Precursor	0,82	1,47	2,18
gene05138-v1.0-hybrid	Fasciculin-2 (Fas-2) (probable)	67,02	81,25	138,45
gene05164-v1.0-hybrid	Beta-D-xylosidase 1 (AtBXL1), Precursor (similar to)	68,48	107,92	116,76
gene05220-v1.0-hybrid	Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23 (AtXTH23), Precursor (similar to)	0,48	0,61	1,66
gene05329-v1.0-hybrid	3-hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase, mitochondrial (HIB-CoA hydrolase), Precursor (probable)	74,51	96,98	107,32
gene05414-v1.0-hybrid	Ribonuclease 3 (RNase III) (probable)	102,08	93,12	70,11
gene05455-v1.0-hybrid	hypothetical protein	2,58	1,41	0,44
gene06067-v1.0-hybrid	Cyclic nucleotide-gated ion channel 1 (AtCNGC1) (probable)	3,73	4,62	10,42
gene06311-v1.0-hybrid	Probable transporter MCH1	9,78	11,17	15,36
gene06817-v1.0-hybrid	Forkhead box protein G1 (FoxG1) (probable)	11,35	8,76	5,66
gene07080-v1.0-hybrid	Major allergen Pru av 1 (similar to)	987,51	721,99	526,37
gene07082-v1.0-hybrid	Major allergen Pru av 1 (putative)	90,47	72,98	48,64
gene07356-v1.0-hybrid	D-arabinose 1-dehydrogenase (probable)	19,50	24,10	34,56
gene07852-v1.0-hybrid	Hydroxyethylthiazole kinase (Thz kinase) (probable)	0,39	1,33	2,79
gene08389-v1.0-hybrid	Probable glutathione S-transferase (similar to)	0,35	0,93	1,50
gene08613-v1.0-hybrid	WD repeat-containing protein 26 homolog (probable)	17,20	14,71	14,32

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene08788-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g25630 (putative)	6,10	7,45	7,96
gene08806-v1.0-hybrid	Putative hydrolase ytaP (probable)	0,64	0,90	1,09
gene08910-v1.0-hybrid	Phosphatidylserine decarboxylase 2 alpha chain, Precursor (probable)	0,94	1,03	1,22
gene08914-v1.0-hybrid	Probable aquaporin TIP-type RB7-5A (similar to)	4,24	5,70	6,62
gene08961-v1.0-hybrid	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX59	0,20	0,27	0,29
gene09240-v1.0-hybrid	Probable basic-leucine zipper transcription factor N	1,19	0,88	0,48
gene09341-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1253307,1253326] Mitogen-activated protein kinase 4 (MAP kinase 4) (similar to)	8,78	9,18	11,56
gene09481-v1.0-hybrid	ER degradation-enhancing alpha-mannosidase-like 1 (probable)	2,92	3,60	4,97
gene09483-v1.0-hybrid	Peroxidase 41 (Atperox P41), Precursor (putative)	0,54	0,70	1,31
gene09821-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1403063,1403082] Cytokinin-O-glucosyltransferase 1 (AtZOG1) (similar to)	0,84	0,38	0,30
gene10007-v1.0-hybrid	Peptide methionine sulfoxide reductase (Peptide Met(O) reductase) (similar to)	35,56	30,10	20,47
gene10008-v1.0-hybrid	Peptide methionine sulfoxide reductase (Peptide Met(O) reductase)	353,37	317,13	239,73
gene10054-v1.0-hybrid	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit beta-3 (CAB3) (probable)	0,70	0,51	0,47
gene10109-v1.0-hybrid	Cellulose synthase A catalytic subunit 7 [UDP-forming] (AtCesA7) (putative)	0,33	0,20	0,10
gene10140-v1.0-hybrid	Probable NADP-dependent oxidoreductase P2 (putative)	4,19	3,49	2,34
gene10150-v1.0-hybrid	General transcription factor 3C polypeptide 5 (TFIIIC63) (probable)	0,34	0,48	0,54
gene10434-v1.0-hybrid	Indole-3-acetic acid-induced protein ARG7 (probable)	0,18	0,73	1,28
gene10550-v1.0-hybrid	Glutathione S-transferase (similar to)	261,00	216,17	163,86
gene10617-v1.0-hybrid	Indole-3-acetic acid-induced protein ARG2 (probable)	49,02	52,10	83,53
gene10758-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [696264,696440] Peroxidase 20 (Atperox P20), Precursor (similar to)	0,27	0,06	0,03
gene10918-v1.0-hybrid	Large proline-rich protein BAT2 (probable)	0,78	0,43	0,11
gene11129-v1.0-hybrid	Protein TRANSPARENT TESTA 12 (putative)	10,10	12,30	12,82
gene11154-v1.0-hybrid	Auxin-induced protein 5NG4 (probable)	6,68	9,44	12,27
gene11476-v1.0-hybrid	hypothetical protein	1,21	2,88	3,66
gene11598-v1.0-hybrid	Heparanase-like protein 3, Precursor (similar to)	5,66	4,33	4,39
gene11599-v1.0-hybrid	CysteinyI-tRNA synthetase (CysRS) (probable)	1,54	2,04	2,48
gene11717-v1.0-hybrid	DNA-binding protein creA (probable)	10,04	17,09	34,92
gene11813-v1.0-hybrid	Sterol O-acyltransferase 2 (ACAT-2) (probable)	5,95	8,06	12,25
gene11914-v1.0-hybrid	Blue copper protein, Precursor (similar to)	1,92	0,84	0,42

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene12631-v1.0-hybrid	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim17 (similar to)	11,09	9,18	5,12
gene12970-v1.0-hybrid	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 6 ((1->3)-beta-glucanase 6), Precursor (similar to)	5,23	4,76	3,54
gene13029-v1.0-hybrid	Probable protein phosphatase 2C 47 (AtPP2C47) (similar to)	2,15	1,75	1,40
gene13072-v1.0-hybrid	Endochitinase, Precursor (similar to)	5,71	8,45	15,20
gene13191-v1.0-hybrid	Heat shock protein 83 (putative)	107,31	149,16	203,24
gene13367-v1.0-hybrid	Elongation factor 1-gamma (EF-1-gamma) (similar to)	17,68	20,22	20,91
gene13399-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 704C1 (probable)	0,31	0,14	0,10
gene13417-v1.0-hybrid	Translation initiation factor IF-2 (probable)	24,15	26,22	59,21
gene13821-v1.0-hybrid	Histone H4 (similar to)	3,93	6,46	8,33
gene14094-v1.0-hybrid	Auxin response factor 15 (probable)	0,41	1,09	5,13
gene14190-v1.0-hybrid	Ethylene-responsive transcription factor ABI4 (ERF ABI4) (probable)	0,17	0,06	0,04
gene14308-v1.0-hybrid	Putative disease resistance RPP13-like protein 1 (probable)	1,14	0,62	0,47
gene14452-v1.0-hybrid	Cytokinin dehydrogenase 1 (CKO 1), Precursor (similar to)	2,37	2,69	3,95
gene14513-v1.0-hybrid	Protein disulfide-isomerase 2 (PDI2), Precursor (probable)	2,27	1,86	1,68
gene14629-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2642090,2642109] Probable serine/threonine-protein kinase CG32666 (similar to)	0,21	0,54	3,60
gene14861-v1.0-hybrid	Glutamate receptor 1, Precursor (probable)	1,92	0,99	0,72
gene15364-v1.0-hybrid	DNA-directed RNA polymerase subunit beta (RNAP subunit beta) (probable)	0,92	0,82	0,32
gene15580-v1.0-hybrid	F-box/LRR-repeat protein At3g58900 (probable)	0,15	0,41	0,68
gene15670-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase MRCK gamma (MRCK gamma) (probable)	0,24	0,39	1,17
gene15705-v1.0-hybrid	50S ribosomal protein L6P (probable)	29,33	47,06	96,76
gene16556-v1.0-hybrid	Auxin-induced protein PCNT115 (similar to)	0,16	0,19	0,65
gene17254-v1.0-hybrid	Vesicle-fusing ATPase (similar to)	1,83	2,56	2,73
gene17255-v1.0-hybrid	Vesicle-fusing ATPase (similar to)	2,51	3,66	3,61
gene17296-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 87A3 (probable)	0,85	1,11	1,74
gene17345-v1.0-hybrid	Phosphoenolpyruvate carboxylase 1 (PEPCase 1) (probable)	86,08	71,29	55,03
gene18099-v1.0-hybrid	L-ascorbate peroxidase 2, cytosolic (APX1b) (putative)	18,51	14,08	13,62
gene19123-v1.0-hybrid	Cell division protein ftsY homolog (probable)	0,81	0,92	3,52
gene19212-v1.0-hybrid	Chitinase domain-containing protein 1, Precursor (probable)	5,87	6,17	12,26
gene19518-v1.0-hybrid	Plastid-lipid-associated protein, chloroplastic, Precursor (putative)	158,17	173,50	181,66
gene19628-v1.0-hybrid	Polyphenol oxidase, chloroplastic (PPO), Precursor (probable)	0,30	0,51	0,71
gene19709-v1.0-hybrid	Myb family transcription factor APL (AtAPL) (putative)	5,91	6,52	9,32

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene24409-v1.0-hybrid	Callose synthase 9 (similar to)	0,20	0,27	0,32
gene24519-v1.0-hybrid	Probable protein phosphatase 2C 49 (AtPP2C49) (putative)	5,26	5,74	8,41
gene24820-v1.0-hybrid	Transcription repressor MYB5 (AtMYB5) (similar to)	168,17	166,20	112,70
gene24922-v1.0-hybrid	Transcription termination factor, mitochondrial (mTERF), Precursor (probable)	1,26	1,16	0,46
gene25149-v1.0-hybrid	Myb-related protein 305 (similar to)	0,28	0,39	0,66
gene25273-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [373957,375087] Transcription factor bHLH63 (bHLH 63) (probable)	2,20	2,68	3,81
gene25420-v1.0-hybrid	Alanyl-tRNA synthetase (AlaRS) (similar to)	70,25	62,51	48,24
gene25796-v1.0-hybrid	UPF0139 membrane protein At5g07960 (putative)	42,59	37,79	28,19
gene25994-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [278908,278927] Nck-associated protein 1 homolog (probable)	6,46	4,90	3,47
gene26277-v1.0-hybrid	Probable carbohydrate esterase At4g34215 (similar to)	36,39	32,26	27,22
gene26305-v1.0-hybrid	Anthocyanin 3'-O-beta-glucosyltransferase (3'GT) (putative)	1,23	1,35	2,88
gene26344-v1.0-hybrid	Anthocyanin 3'-O-beta-glucosyltransferase (3'GT) (putative)	4,74	5,62	10,88
gene26345-v1.0-hybrid	Anthocyanin 3'-O-beta-glucosyltransferase (3'GT) (putative)	18,50	20,51	26,05
gene26629-v1.0-hybrid	Heat shock cognate 70 kDa protein 2 (putative)	405,53	503,05	599,29
gene26891-v1.0-hybrid	Ribonuclease S-7, Precursor (probable)	14,41	10,37	9,59
gene26905-v1.0-hybrid	Receptor-like protein kinase HSL1, Precursor (probable)	3,90	4,31	6,17
gene27006-v1.0-hybrid	RING-H2 finger protein ATL2I (probable)	215,64	153,51	108,56
gene27107-v1.0-hybrid	Probable disease resistance protein At5g66910	0,81	1,51	3,77
gene27143-v1.0-hybrid	DNA polymerase processivity factor (PAP) (probable)	3,71	2,15	1,55
gene27404-v1.0-hybrid	Pair-rule protein odd-paired (probable)	1,22	0,87	0,78
gene27472-v1.0-hybrid	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase RCH1, Precursor (probable)	1,29	1,77	2,74
gene27526-v1.0-hybrid	Laccase-15, Precursor (putative)	8,05	4,66	2,81
gene27781-v1.0-hybrid	CUG-BP- and ETR-3-like factor 3-A (CELF-3A) (probable)	0,41	0,56	0,81
gene27922-v1.0-hybrid	L-2-hydroxyglutarate dehydrogenase, mitochondrial (Duranin), Precursor (probable)	1,80	2,56	2,99
gene28141-v1.0-hybrid	Biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 subunit 1 (BLOC-1 subunit 1) (similar to)	32,57	30,00	24,58
gene28200-v1.0-hybrid	Cytokinin-O-glucosyltransferase 2 (AtZOG2)	13,03	11,55	7,05
gene28315-v1.0-hybrid	Translation initiation factor IF-2 (probable)	0,72	0,55	0,09
gene28471-v1.0-hybrid	Methionyl-tRNA synthetase (MetRS) (probable)	1,28	1,45	1,70
gene28570-v1.0-hybrid	Alpha-amylase, Precursor (similar to)	6,73	6,68	8,39
gene28621-v1.0-hybrid	Probable rhamnose biosynthetic enzyme 3 (similar to)	2,22	2,96	3,14

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene28696-v1.0-hybrid	Brassinosteroid-regulated protein BRU1, Precursor (similar to)	1,92	2,26	4,69
gene28709-v1.0-hybrid	Meiosis protein mei2 (similar to)	3,82	4,12	6,33
gene28749-v1.0-hybrid	Aspartic proteinase nepenthesin-2, Precursor (probable)	8,74	10,59	16,13
gene28922-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [434791,434810] NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 2 (similar to)	11,79	7,87	8,95
gene29030-v1.0-hybrid	Putative calcium-transporting ATPase 13, plasma membrane-type	7,53	9,75	15,90
gene29031-v1.0-hybrid	Putative calcium-transporting ATPase 13, plasma membrane-type	0,82	1,23	2,15
gene29064-v1.0-hybrid	U-box domain-containing protein 43 (probable)	1,06	1,28	1,98
gene29471-v1.0-hybrid	Polyamine oxidase 1 (AtPAO1) (similar to)	0,45	0,66	1,18
gene29525-v1.0-hybrid	BES1/BZR1 homolog protein 2 (putative)	138,46	122,46	91,67
gene30045-v1.0-hybrid	Zinc finger protein CONSTANS-LIKE 4 (probable)	0,75	1,08	1,68
gene30060-v1.0-hybrid	Putative serine/threonine-protein kinase receptor (SRK), Precursor (probable)	0,55	0,83	1,63
gene30425-v1.0-hybrid	Probable polyol transporter 4 (putative)	9,67	11,54	14,31
gene30531-v1.0-hybrid	Amidase (probable)	0,11	0,44	0,55
gene30622-v1.0-hybrid	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta (similar to)	87,51	98,12	101,40
gene30667-v1.0-hybrid	Transcription factor DYSFUNCTIONAL TAPETUM 1 (bHLH 22) (probable)	0,51	0,80	0,72
gene30743-v1.0-hybrid	Caltractin (probable)	0,67	2,12	3,52
gene30779-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1443627,1443741] Protein SRG1 (AtSRG1) (probable)	63,66	94,26	159,73
gene30782-v1.0-hybrid	Protein SRG1 (AtSRG1) (probable)	75,14	87,06	115,79
gene31000-v1.0-hybrid	Probable amino-acid racemase	0,75	0,45	0,22
gene31164-v1.0-hybrid	Sucrose-phosphate synthase 2 (putative)	0,65	0,89	1,25
gene31212-v1.0-hybrid	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GSO1, Precursor (probable)	5,79	8,28	11,25
gene31337-v1.0-hybrid	Gibberellin 2-beta-dioxygenase 1 (putative)	47,88	68,47	74,17
gene31533-v1.0-hybrid	Heat shock protein ST11 (probable)	0,75	0,82	1,09
gene31608-v1.0-hybrid	Transcriptional corepressor LEUNIG (probable)	1,21	0,58	0,11
gene31797-v1.0-hybrid	Protein LATERAL ORGAN BOUNDARIES (AS2-like protein 4) (putative)	0,26	1,70	1,70
gene31864-v1.0-hybrid	Anthranilate phosphoribosyltransferase (probable)	43,07	49,94	75,81
gene31867-v1.0-hybrid	Anthranilate phosphoribosyltransferase (probable)	85,45	114,72	174,72
gene31982-v1.0-hybrid	Probable disease resistance protein At5g66910	0,34	0,63	3,03
gene32199-v1.0-hybrid	Triose phosphate/phosphate translocator, non-green plastid, chloroplastic (CTPT), Precursor (similar to)	2,16	2,77	3,39
gene32218-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 2U1 (probable)	1,62	1,80	1,99
gene32288-v1.0-hybrid	Probable calcium-binding protein CML13	1254,80	1241,67	915,48
gene32347-v1.0-hybrid	Leucoanthocyanidin dioxygenase (LDOX) (putative)	1335,33	1362,46	995,03

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene00601-v1.0-hybrid	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 7 (probable)	458,36	481,00	369,13
gene00608-v1.0-hybrid	Probable potassium transporter 17 (similar to)	0,91	0,93	1,36
gene00610-v1.0-hybrid	Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), Precursor (probable)	0,32	0,14	0,11
gene00613-v1.0-hybrid	Sodium/hydrogen exchanger 7 (NHE-7) (putative)	0,62	0,85	1,03
gene00643-v1.0-hybrid	RING-H2 finger protein ATL1E (probable)	2,89	3,00	5,02
gene00748-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [569683,569702] TMV resistance protein N (probable)	0,03	0,03	0,11
gene00783-v1.0-hybrid	hypothetical protein	94,44	91,65	74,86
gene00831-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [362534,362554] Cell elongation protein diminuto (similar to)	10,40	8,99	11,58
gene00848-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,00	0,09	0,09
gene00914-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g33760 (similar to)	0,09	0,07	0,01
gene00939-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [342030,342049] Exostosin-1 (probable)	3,50	3,14	4,32
gene01125-v1.0-hybrid	Eukaryotic translation initiation factor 1A (EIF-1A) (similar to)	3856,50	3825,33	3342,26
gene01138-v1.0-hybrid	Lipid-A-disaccharide synthase (probable)	0,13	0,10	0,18
gene01223-v1.0-hybrid	Protein fmtA, Precursor (probable)	1,88	1,71	2,85
gene01246-v1.0-hybrid	Maturase K (probable)	0,00	0,46	0,73
gene01260-v1.0-hybrid	F-box/WD repeat-containing protein sel-10 (probable)	2,71	3,08	3,85
gene01274-v1.0-hybrid	Kininogen-1 light chain, Precursor (similar to)	18,55	21,14	160,73
gene01275-v1.0-hybrid	UPF0658 Golgi apparatus membrane protein C1952.10c (probable)	7,42	7,87	63,38
gene01304-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [277962,278169] Probable mitochondrial chaperone bcs1	15,53	14,39	19,05
gene01308-v1.0-hybrid	Thaumatococcus-like protein, Precursor (probable)	0,02	0,12	0,13
gene01313-v1.0-hybrid	Mating-type locus allele B3 protein (probable)	5,85	4,91	7,35
gene01317-v1.0-hybrid	Tropomyosin-2 (TMII) (probable)	0,39	0,30	0,57
gene01325-v1.0-hybrid	Paired amphipathic helix protein Sin3 (AtSin3) (probable)	5,99	5,91	8,06
gene01340-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 75 (similar to)	15,20	13,95	19,87
gene01352-v1.0-hybrid	Regulation of nuclear pre-mRNA domain-containing protein 1B (probable)	4,97	4,72	6,97
gene01396-v1.0-hybrid	Histone-lysine N-methyltransferase, H3 lysine-9 specific SUVH4 (Su(var)3-9 homolog protein 4) (putative)	1,30	1,31	1,85
gene01407-v1.0-hybrid	Lipid transfer-like protein VAS, Precursor (similar to)	0,32	0,12	0,06
gene01465-v1.0-hybrid	F-box/kelch-repeat protein At3g06240 (probable)	2,63	3,11	4,23
gene01620-v1.0-hybrid	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase ROS, Precursor (similar to)	1,45	1,50	2,56
gene01659-v1.0-hybrid	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 9 (Cl-B22) (probable)	28,57	24,43	20,78

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene04373-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1815658,1815677] Alanyl-tRNA synthetase (AlaRS) (probable)	0,37	0,30	0,16
gene04391-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 3 (putative)	41,80	42,46	51,16
gene04420-v1.0-hybrid	Cystathionine gamma-synthase, chloroplastic (CGS), Precursor (putative)	46,39	44,18	59,61
gene04425-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g15300 (similar to)	1,33	1,18	0,77
gene04438-v1.0-hybrid	Probable calcium-binding protein CML45	13,70	12,62	27,73
gene04456-v1.0-hybrid	Cell division protease ftsH homolog 6, chloroplastic (AtFtsH6), Precursor (similar to)	3,60	3,62	4,68
gene04482-v1.0-hybrid	RING-H2 zinc finger protein RHA2a (similar to)	2,26	2,28	1,53
gene04486-v1.0-hybrid	Importin-9 (Imp9) (probable)	0,70	0,64	1,19
gene04532-v1.0-hybrid	Histone acetyltransferase MYST4 (MYST protein 4) (probable)	0,49	0,51	1,59
gene04557-v1.0-hybrid	Rho GTPase-activating protein 92B (probable)	0,37	0,20	0,24
gene04793-v1.0-hybrid	Coiled-coil domain-containing protein 112 (probable)	3,59	3,62	4,54
gene04808-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1441859,1441878] DnaJ protein homolog 2 (similar to)	0,62	0,66	0,72
gene04816-v1.0-hybrid	DNA polymerase epsilon subunit C (DNA polymerase II subunit C) (probable)	5,45	5,52	6,53
gene04833-v1.0-hybrid	Translation initiation factor IF-2 (probable)	2,51	2,43	3,34
gene04886-v1.0-hybrid	Protein FAR1-RELATED SEQUENCE 5 (probable)	0,08	0,00	0,67
gene04963-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1639954,1641305] Lipoprotein signal peptidase (SPase II) (probable)	0,00	0,04	0,03
gene04987-v1.0-hybrid	GPI mannosyltransferase 3 (GPI-MT-III) (probable)	1,08	0,99	1,50
gene05003-v1.0-hybrid	Probable beta-1,3-galactosyltransferase 16 (similar to)	2,17	2,07	3,29
gene05094-v1.0-hybrid	Probable ubiquitin carrier protein E2 26	5,25	4,88	7,82
gene05139-v1.0-hybrid	Myrosinase-binding protein-like At1g52030 (MBP) (probable)	2,18	2,63	9,62
gene05147-v1.0-hybrid	PH-interacting protein (PHIP) (probable)	0,44	0,46	0,58
gene05282-v1.0-hybrid	U6 snRNA-associated Sm-like protein LSM1 (similar to)	0,48	0,56	0,93
gene05293-v1.0-hybrid	Probably inactive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At5g48380, Precursor	163,14	160,47	211,41
gene05310-v1.0-hybrid	Chaperone protein hscA homolog (probable)	0,00	0,00	0,06
gene05313-v1.0-hybrid	Probable small nuclear ribonucleoprotein F (snRNP-F) (similar to)	32,50	31,91	66,60
gene05380-v1.0-hybrid	F-box/kelch-repeat protein At1g51550 (putative)	5,06	4,74	5,71
gene05478-v1.0-hybrid	RING-H2 finger protein ATL1P (probable)	15,63	16,79	21,63
gene05545-v1.0-hybrid	Aspartate aminotransferase (AspAT) (probable)	11,47	11,41	13,38
gene05551-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,15	0,21	0,25
gene05565-v1.0-hybrid	Molybdenum cofactor synthesis protein 2B (MOCS2B)	26,51	35,94	69,82
gene04359-v1.0-hybrid	(probable)	4,70	4,08	11,77

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene05600-v1.0-hybrid	Cytochrome c oxidase subunit 6A1, mitochondrial, Precursor (probable)	49,22	45,36	34,36
gene05605-v1.0-hybrid	Malate dehydrogenase, glyoxysomal, Precursor (putative)	50,50	52,58	41,75
gene05643-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,54	0,32	0,18
gene05697-v1.0-hybrid	Endonuclease Dicer homolog 2a (OsDCL2a) (probable)	0,08	0,06	0,14
gene05700-v1.0-hybrid	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase, chloroplast (3-PGDH), Precursor (putative)	0,21	0,25	0,62
gene05709-v1.0-hybrid	Vacuolar cation/proton exchanger 2 (similar to)	2,99	2,77	4,85
gene05725-v1.0-hybrid	UPF0553 protein (probable)	2,99	2,92	4,51
gene05740-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [5021072,5021448] F-box protein At4g12560 (probable)	0,58	0,51	0,45
gene05751-v1.0-hybrid	60S ribosomal protein L26-1 (putative)	475,43	475,36	326,58
gene05858-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1008296,1008315] Lys-63-specific deubiquitinase BRCC36 (similar to)	0,37	0,26	0,58
gene05878-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1113361,1113380] Peptide deformylase 1A, chloroplast (PDF 1A), Precursor (putative)	3,67	3,11	3,01
gene05893-v1.0-hybrid	Vacuolar protein 8 (probable)	1,26	1,29	1,84
gene05894-v1.0-hybrid	Probable gibberellin receptor GID1L1	3,64	5,24	2,22
gene05959-v1.0-hybrid	ADP-ribosyl cyclase (ADRC), Precursor (probable)	0,05	0,10	0,15
gene06032-v1.0-hybrid	Probable potassium transporter 17 (similar to)	2,51	2,30	3,44
gene06034-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [774756,774775] Potassium transporter 21 (probable)	0,00	0,00	0,06
gene06060-v1.0-hybrid	Multiple exostoses homolog 1 (probable)	0,83	1,45	1,33
gene06103-v1.0-hybrid	TVP38/TMEM64 family membrane protein slr0305 (probable)	5,02	5,53	6,51
gene06116-v1.0-hybrid	Metabotropic glutamate receptor-like protein P (probable)	0,25	0,39	0,74
gene06176-v1.0-hybrid	Protein VERNALIZATION INSENSITIVE 3 (probable)	5,40	4,74	7,19
gene06302-v1.0-hybrid	Homeobox protein Hox-B7 (probable)	20,82	20,16	16,17
gene06323-v1.0-hybrid	Probable inactive purple acid phosphatase 27, Precursor (putative)	0,63	0,43	0,92
gene06350-v1.0-hybrid	Putative calcium-binding protein CML19 (probable)	13,85	12,08	41,21
gene06368-v1.0-hybrid	Beta-glucosidase 6 (Os3bglu6), Precursor (probable)	10,66	10,90	7,77
gene06500-v1.0-hybrid	DUF246 domain-containing protein At1g04910 (similar to)	8,22	8,09	10,52
gene06565-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2088844,2088863] Short-chain type dehydrogenase/reductase (similar to)	46,42	51,55	34,62
gene06570-v1.0-hybrid	Heat stress transcription factor A-5 (AtHsTA5) (probable)	7,24	7,71	12,26
gene06584-v1.0-hybrid	Long-chain-fatty-acid-CoA ligase 1 (LACS 1) (probable)	0,40	0,35	0,65
gene06599-v1.0-hybrid	Indole-3-acetate beta-glucosyltransferase 1 (probable)	3,58	3,19	5,64

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene06663-v1.0-hybrid	DNA-damage-repair/toleration protein DRT100, Precursor (similar to)	1,08	1,09	0,42
gene06750-v1.0-hybrid	Dihydroorotase (DHOase) (similar to)	0,00	0,11	0,33
gene06759-v1.0-hybrid	5'-AMP-activated protein kinase subunit gamma-2 prkag (AMPK gamma-2 chain) (probable)	1,20	0,97	1,67
gene06825-v1.0-hybrid	Putative flagella-related protein G (probable)	4,06	5,13	8,40
gene06871-v1.0-hybrid	C2 domain-containing protein At1g63220 (probable)	28,13	29,70	49,48
gene07040-v1.0-hybrid	RING-H2 finger protein ATL3F (probable)	67,43	70,16	137,33
gene07055-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2362968,2366683] Exopolygalacturonase clone GBGE184 (ExoPG), Precursor (probable)	4,23	4,05	3,52
gene07433-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g18485 (probable)	0,16	0,08	0,00
gene07440-v1.0-hybrid	E3 ubiquitin-protein ligase MYLIP-A (MIR-A) (probable)	2,36	2,70	3,23
gene07475-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1002936,1004727] Glutamate receptor 1.2, Precursor (probable)	0,04	0,06	0,13
gene07484-v1.0-hybrid	Transcription factor WER (AtMYB66) (probable)	0,15	0,26	0,45
gene07582-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (probable)	0,05	0,07	0,22
gene07661-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [160560,160579] Myosin-14 (NMHC II-C) (probable)	0,02	0,02	0,18
gene07776-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,12	0,08	0,07
gene07778-v1.0-hybrid	Probable serine/threonine-protein kinase At5g41260 (similar to)	0,10	0,14	0,51
gene07836-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [52322,52341] Microtubule-actin cross-linking factor 1, isoform 4 (probable)	0,02	0,01	0,00
gene07851-v1.0-hybrid	Serpin-ZX (probable)	4,47	5,10	6,31
gene07853-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [280367,280386] Trypsin inhibitor DE-3 (probable)	0,40	0,47	1,18
gene07873-v1.0-hybrid	E3 ubiquitin-protein ligase CHFR (probable)	3,66	3,64	5,55
gene07891-v1.0-hybrid	Protein DAMAGED DNA-BINDING 2 (similar to)	0,55	0,51	0,92
gene07939-v1.0-hybrid	Probable protein phosphatase 2C 25 (AIPP2C25) (similar to)	3,36	2,95	7,64
gene07962-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [460889,460908] Neuropathy target esterase sws (probable)	0,26	0,21	0,14
gene07980-v1.0-hybrid	Peptide transporter PTR1 (putative)	22,43	21,12	32,92
gene08003-v1.0-hybrid	Splicing factor, arginine/serine-rich 19 (SR-A1) (probable)	0,89	1,28	0,33
gene08154-v1.0-hybrid	G-box-binding factor 4 (AtbZIP40) (probable)	1,21	1,33	1,69
gene08285-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1055583,1056001] hypothetical protein	1,24	1,49	2,12
gene08293-v1.0-hybrid	Fetuin-B, Precursor (probable)	67,65	62,94	55,37
gene08525-v1.0-hybrid	Serologically defined colon cancer antigen 8 (hCCCAP) (probable)	2,04	1,81	1,65
gene08533-v1.0-hybrid	DEP domain-containing protein DDB_G0279099 (probable)	0,00	0,00	0,10

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene08551-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [409672,409898] ABC transporter B family member 14 (ABC transporter ABCB.14) (similar to)	0,16	0,27	0,23
gene08579-v1.0-hybrid	Phosphoinositide-3-kinase-interacting protein 1, Precursor (probable)	199,45	205,31	153,84
gene08610-v1.0-hybrid	Large proline-rich protein BAT3 (probable)	0,78	1,54	1,49
gene08659-v1.0-hybrid	F-box/LRR-repeat protein 4 (AtFBL4) (probable)	9,55	9,99	12,72
gene08717-v1.0-hybrid	Bud site selection protein 4 (probable)	1,87	1,70	1,22
gene08752-v1.0-hybrid	BES1/BZR1 homolog protein 4 (probable)	8,74	8,30	12,36
gene08764-v1.0-hybrid	Golgin subfamily A member 4 (probable)	4,87	4,45	6,60
gene08786-v1.0-hybrid	Probable receptor-like protein kinase At2g42960	0,00	0,00	0,05
gene08965-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,66	0,66	0,96
gene08970-v1.0-hybrid	Alcohol dehydrogenase-like 6 (similar to)	1,16	1,14	1,44
gene09069-v1.0-hybrid	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 14 (similar to)	0,25	0,18	0,07
gene09084-v1.0-hybrid	Probable protein phosphatase 2C 12 (AtPP2C12) (putative)	2,55	2,22	3,94
gene09085-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase CLA4 (probable)	7,58	5,70	10,95
gene09089-v1.0-hybrid	Polcalcine Jun o 2 (probable)	2,22	0,91	6,49
gene09092-v1.0-hybrid	hypothetical protein	2,52	2,34	2,84
gene09093-v1.0-hybrid	Glycogenin-1 (probable)	0,40	0,27	0,07
gene09128-v1.0-hybrid	hypothetical protein	1,88	1,73	4,97
gene09134-v1.0-hybrid	Polyadenylate-binding protein 2 (Poly(A)-binding protein 2) (putative)	74,23	66,30	91,23
gene09193-v1.0-hybrid	Translation initiation factor IF-2 (probable)	1,15	1,07	0,73
gene09282-v1.0-hybrid	Peptide transporter PTR1 (similar to)	2,25	2,31	3,24
gene09321-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1139376,1139395] Microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 3 (probable)	0,10	0,15	0,43
gene09388-v1.0-hybrid	Tubulin beta-4 chain	0,02	0,05	0,08
gene09430-v1.0-hybrid	Protein TRANSPARENT TESTA 12 (probable)	1,38	1,31	2,57
gene09491-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2063862,2063881] Alpha-N-acetylglucosaminidase 77 kDa form, Precursor (probable)	0,94	1,04	1,72
gene09533-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2312467,2312486] Protein TANC1 (probable)	0,18	0,18	0,23
gene09609-v1.0-hybrid	Translin-1 (probable)	3,23	2,90	2,71
gene09705-v1.0-hybrid	Fasciclin-like arabinogalactan protein 11, Precursor (similar to)	2,77	2,07	1,27
gene09731-v1.0-hybrid	UPF0497 membrane protein At2g28370 (putative)	14,43	13,43	11,65
gene09820-v1.0-hybrid	HEAT repeat-containing protein 7A homolog (probable)	0,14	0,15	0,27
gene09939-v1.0-hybrid	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase ((1->3)-beta-glucanase), Precursor (similar to)	0,23	0,23	0,67
gene09988-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 71A9 (putative)	1,32	0,90	3,93
gene09989-v1.0-hybrid	E3 ubiquitin-protein ligase RGLG2 (similar to)	10,56	8,63	12,78

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene10001-v1.0-hybrid	Systemin receptor SR160, Precursor (probable)	24,69	28,17	42,26
gene10003-v1.0-hybrid	Protein tonB (probable)	89,07	93,02	62,68
gene10043-v1.0-hybrid	Lariat debranching enzyme (DmDBR1) (probable)	76,16	73,43	61,86
gene10053-v1.0-hybrid	ABC transporter I family member 1 (ABC transporter ABCI.1) (putative)	5,42	5,03	3,30
gene10103-v1.0-hybrid	Cysteinyl-tRNA synthetase (CysRS) (probable)	0,76	1,00	1,73
gene10113-v1.0-hybrid	DNA double-strand break repair rad50 ATPase (probable)	0,11	0,03	0,00
gene10169-v1.0-hybrid	Endothelial monocyte-activating polypeptide 2 (probable)	3,48	3,41	2,00
gene10235-v1.0-hybrid	Putative ribonuclease H protein At1g65750 (probable)	5,22	5,14	8,06
gene10291-v1.0-hybrid	Probable protein phosphatase 2C 52 (AtPP2C52) (similar to)	4,93	5,11	8,31
gene10296-v1.0-hybrid	30S ribosomal protein S6 (probable)	1,14	1,73	3,70
gene10349-v1.0-hybrid	UPF0272 protein TM_0964 (probable)	3407,53	3395,21	2726,84
gene10506-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,40	0,10	1,19
gene10512-v1.0-hybrid	Dipeptidyl aminopeptidase A (DPAP A) (probable)	1,89	1,46	4,97
gene10520-v1.0-hybrid	Phosphoacetylglucosamine mutase (PAGM) (similar to)	21,72	21,85	17,00
gene10543-v1.0-hybrid	Retrotransposable element Tf2 155 kDa protein type 1 (probable)	0,01	0,02	0,07
gene10604-v1.0-hybrid	21 kDa protein, Precursor (probable)	0,07	0,64	0,64
gene10653-v1.0-hybrid	Probable receptor-like protein kinase At5g47070 (similar to)	2,84	2,53	4,04
gene10773-v1.0-hybrid	Protein SRG1 (AtSRG1) (probable)	4,12	4,34	2,52
gene10785-v1.0-hybrid	Endonuclease (probable)	25,39	24,33	19,21
gene10821-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1728439,1728458] Mucin-2 (MUC-2), Precursor (probable)	0,00	0,02	0,05
gene10845-v1.0-hybrid	Ethylene-responsive transcription factor 5 (AtERF5) (similar to)	30,70	36,00	56,83
gene10872-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g47360 (putative)	2,37	2,64	3,10
gene10926-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [169737,169911] hypothetical protein	0,01	0,00	0,04
gene10963-v1.0-hybrid	TD and POZ domain-containing protein 4 (probable)	27,30	23,48	22,40
gene10971-v1.0-hybrid	Lamin-B receptor (probable)	1,48	2,19	0,34
gene10989-v1.0-hybrid	Aberrant root formation protein 4 (probable)	1,77	2,03	2,29
gene10990-v1.0-hybrid	Aberrant root formation protein 4 (probable)	0,83	0,99	1,22
gene11014-v1.0-hybrid	Putative ribonuclease H protein At1g65750 (probable)	0,25	0,08	0,66
gene11069-v1.0-hybrid	ABC transporter G family member 23 (ABC transporter ABCG.23) (similar to)	0,24	0,33	0,54
gene11076-v1.0-hybrid	Endoglucanase 17, Precursor (similar to)	1,52	1,64	3,02
gene11221-v1.0-hybrid	Aspartic proteinase Asp1 (OsAsp1), Precursor (probable)	14,39	15,58	19,44

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene11272-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1499597,1499723] Gex-3-interacting protein 8 (probable)	0,05	0,13	0,16
gene11298-v1.0-hybrid	Nucleoside-triphosphatase (NTPase) (similar to)	0,82	0,72	0,45
gene11300-v1.0-hybrid	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim17 (similar to)	178,40	196,50	112,49
gene11381-v1.0-hybrid	Probable caffeoyl-CoA O-methyltransferase At4g26220 (CCoAOMT) (putative)	0,00	0,10	0,12
gene11413-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g15690 (probable)	9,53	10,35	7,23
gene11604-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein 1 (probable)	58,58	60,29	51,40
gene11616-v1.0-hybrid	14 kDa proline-rich protein DC2.15, Precursor (probable)	0,02	0,04	0,05
gene11667-v1.0-hybrid	Uncharacterized protein At1g15400 (similar to)	0,04	0,10	0,16
gene11670-v1.0-hybrid	UPF0481 protein At3g47200 (probable)	9,30	10,08	13,66
gene11683-v1.0-hybrid	Acyl-protein thioesterase 2 (APT-2) (probable)	1,07	0,92	0,94
gene11776-v1.0-hybrid	30S ribosomal protein S3 (probable)	2,73	3,19	3,62
gene11803-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1089953,1089972] SNARE-interacting protein KEULE (similar to)	0,06	0,05	0,12
gene11814-v1.0-hybrid	Translation initiation factor IF-2 (probable)	0,02	0,00	0,56
gene11869-v1.0-hybrid	UPF0546 membrane protein (probable)	78,54	85,58	62,68
gene11901-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [194647,194666] Seryl-tRNA synthetase (SerRS) (probable)	0,35	0,55	0,67
gene11928-v1.0-hybrid	Gelsolin-related protein of 125 kDa (GRP125) (probable)	4,32	5,33	7,87
gene11930-v1.0-hybrid	RING-H2 finger protein ATL10 (similar to)	1,59	1,06	0,79
gene11937-v1.0-hybrid	DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB1 (RNA polymerase II subunit B1) (probable)	21,58	21,32	48,69
gene11953-v1.0-hybrid	Atrophin-1 (probable)	16,41	18,34	26,58
gene11964-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [113138,113157] F-box protein At1g78280 (putative)	2,23	2,69	4,31
gene11984-v1.0-hybrid	Nucleocapsid protein p15-gag (similar to)	0,05	0,07	0,07
gene11985-v1.0-hybrid	Serine palmitoyltransferase 1 (SPT 1) (probable)	0,01	0,01	0,10
gene11989-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase-like protein At3g51990, Precursor (similar to)	2,43	2,44	3,04
gene11999-v1.0-hybrid	N-terminal acetyltransferase complex ARD1 subunit homolog A (similar to)	355,30	350,11	277,68
gene12002-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [757694,758116] Serine carboxypeptidase-like 40, Precursor (similar to)	2,40	2,72	4,56
gene12006-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [777833,777852] Putative AC transposase (probable)	0,05	0,03	0,11
gene12008-v1.0-hybrid	PAX-interacting protein 1 (probable)	7,89	6,51	9,46
gene12016-v1.0-hybrid	Licodione synthase (probable)	0,00	0,02	0,11
gene12017-v1.0-hybrid	F-box/kelch-repeat protein At3g23880 (probable)	2,80	2,23	1,78
gene12018-v1.0-hybrid	FAD-dependent cmnm(5)s(2)U34 oxidoreductase (probable)	0,12	0,09	0,17

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene12023-v1.0-hybrid	EF-hand domain-containing protein 1 (probable)	4,99	5,21	6,31
gene12027-v1.0-hybrid	Serine carboxypeptidase-like 18, Precursor (probable)	0,03	0,01	0,00
gene12068-v1.0-hybrid	Uncharacterized protein C1orf167 (similar to)	0,21	0,08	0,06
gene12103-v1.0-hybrid	Coat protein (probable)	67,60	56,44	105,45
gene12127-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g05665, mitochondrial, Precursor (probable)	2,95	2,32	1,54
gene12135-v1.0-hybrid	Polyadenylate-binding protein 1-B (Poly(A)-binding protein, cytoplasmic 1-B) (probable)	7,16	7,54	3,95
gene12218-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1788597,1788616] Biotin carboxylase (ACC) (similar to)	7,10	7,16	10,19
gene12274-v1.0-hybrid	CAS1 domain-containing protein 1, Precursor (probable)	8,29	8,48	10,35
gene12291-v1.0-hybrid	Probable xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 23 (AtXTH23), Precursor (putative)	302,92	302,13	456,40
gene12316-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,77	0,76	1,14
gene12345-v1.0-hybrid	Tegument protein BKRF4 (probable)	8,57	9,26	11,57
gene12392-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,16	0,11	0,05
gene12442-v1.0-hybrid	IAA-amino acid hydrolase ILR1-like 5, Precursor (similar to)	18,17	17,21	26,69
gene12462-v1.0-hybrid	Multidrug and toxin extrusion protein 1 (hMATE-1) (probable)	0,17	0,21	0,03
gene12502-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [704533,704552] hypothetical protein	0,55	0,65	0,34
gene12507-v1.0-hybrid	U-box domain-containing protein 13 (probable)	0,45	0,68	0,89
gene12525-v1.0-hybrid	COBRA-like protein 6, Precursor (similar to)	0,11	0,09	0,00
gene12647-v1.0-hybrid	Translation machinery-associated protein 22 (probable)	13,57	14,58	10,72
gene12687-v1.0-hybrid	Putative nuclease HARBI1 (probable)	42,24	40,46	81,50
gene12750-v1.0-hybrid	Crooked neck-like protein 1 (hCm) (probable)	0,13	0,17	0,00
gene12772-v1.0-hybrid	ATPase family AAA domain-containing protein 1 (probable)	20,01	19,75	23,57
gene12790-v1.0-hybrid	Major facilitator superfamily domain-containing protein 5 (probable)	34,04	33,83	41,56
gene12806-v1.0-hybrid	U-box domain-containing protein 44 (probable)	0,63	0,45	0,95
gene12847-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1165387,1165406] 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPDase) (similar to)	0,12	0,19	0,36
gene12872-v1.0-hybrid	Phosphatidylinositol 4-kinase type 2-beta (probable)	1,72	1,59	3,80
gene12892-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1439332,1439351] NF-kappa-B-repressing factor (NFkB-repressing factor) (similar to)	0,06	0,03	0,01
gene12900-v1.0-hybrid	Cyclic nucleotide-gated ion channel 1 (AtCNGC1) (probable)	0,08	0,14	0,18
gene12901-v1.0-hybrid	Cyclic nucleotide-gated ion channel 1 (AtCNGC1)	0,53	0,64	0,85
gene12911-v1.0-hybrid	FAM10 family protein At4g22670	0,00	0,01	0,02

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene12973-v1.0-hybrid	Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 2 (Brefeldin A-inhibited GEP 2) (probable)	10,41	11,28	6,78
gene12976-v1.0-hybrid	Probable S-acyltransferase At3g04970 (similar to)	0,09	0,03	0,20
gene12980-v1.0-hybrid	hypothetical protein	2,63	3,95	5,52
gene12997-v1.0-hybrid	UPF0136 membrane protein At2g26240 (probable)	25,35	25,62	21,54
gene13052-v1.0-hybrid	Ankyrin repeat-containing protein At5g02620 (probable)	0,20	0,25	0,73
gene13078-v1.0-hybrid	Exodeoxyribonuclease 7 small subunit (Exonuclease VII small subunit) (probable)	100,30	93,08	68,66
gene13081-v1.0-hybrid	40S ribosomal protein S30 (similar to)	17,93	17,05	13,06
gene13087-v1.0-hybrid	Putative F-box protein At1g65770 (probable)	0,48	0,40	0,40
gene13166-v1.0-hybrid	Trafficking protein particle complex subunit 1 (probable)	32,53	29,60	26,24
gene13170-v1.0-hybrid	Probable NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 5, mitochondrial, Precursor (putative)	95,22	92,18	78,03
gene13189-v1.0-hybrid	Heat shock protein 83 (similar to)	1,00	1,43	1,83
gene13208-v1.0-hybrid	Ethanolamine kinase 1 (EK1 1) (probable)	1,76	1,12	0,89
gene13329-v1.0-hybrid	Dehydration-responsive element-binding protein 1B (Protein DREB1B) (similar to)	3,17	2,29	0,55
gene13396-v1.0-hybrid	NADH-quinone oxidoreductase subunit I (probable)	0,13	0,17	0,29
gene13431-v1.0-hybrid	Methylosome subunit pICln (I(Cln)) (probable)	5,59	4,12	4,03
gene13447-v1.0-hybrid	Zinc finger MYM-type protein 1 (probable)	0,06	0,07	0,17
gene13500-v1.0-hybrid	Ubiquitin (similar to)	1,31	0,82	0,93
gene13527-v1.0-hybrid	Transmembrane protein 45B (probable)	1,41	1,69	1,89
gene13547-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 70	6,77	6,87	4,55
gene13595-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,33	0,37	0,48
gene13627-v1.0-hybrid	U1 small nuclear ribonucleoprotein 70 kDa (U1 snRNP 70 kDa) (probable)	0,08	0,25	0,48
gene13686-v1.0-hybrid	Disease resistance protein RPM1 (probable)	1,00	1,12	1,19
gene13740-v1.0-hybrid	Copia protease (probable)	4,77	5,27	13,29
gene13764-v1.0-hybrid	Copia protease (probable)	0,03	0,03	0,16
gene13783-v1.0-hybrid	Dehydration-responsive element-binding protein 2A (Protein DREB2A) (probable)	1,92	1,71	4,70
gene13803-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 33	3,29	3,81	11,43
gene13842-v1.0-hybrid	Flotillin-1 (probable)	48,23	48,23	159,02
gene13858-v1.0-hybrid	Auxin-induced protein 6B (probable)	0,00	0,10	0,09
gene13880-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g62680, mitochondrial, Precursor (probable)	0,66	0,57	1,10
gene13930-v1.0-hybrid	Activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 1 (AHA1) (probable)	0,04	0,06	0,15
gene13941-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g41170, mitochondrial, Precursor (probable)	0,03	0,04	0,11
gene13962-v1.0-hybrid	Zinc finger protein 1 (probable)	29,05	31,82	87,66

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene12973-v1.0-hybrid	Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 2 (Brefeldin A-inhibited GEP 2) (probable)	10,41	11,28	6,78
gene12976-v1.0-hybrid	Probable S-acyltransferase At3g04970 (similar to)	0,09	0,03	0,20
gene12980-v1.0-hybrid	hypothetical protein	2,63	3,95	5,52
gene12997-v1.0-hybrid	UPF0136 membrane protein At2g26240 (probable)	25,35	25,62	21,54
gene13052-v1.0-hybrid	Ankyrin repeat-containing protein At5g02620 (probable)	0,20	0,25	0,73
gene13078-v1.0-hybrid	Exodeoxyribonuclease 7 small subunit (Exonuclease VII small subunit) (probable)	100,30	93,08	68,66
gene13081-v1.0-hybrid	40S ribosomal protein S30 (similar to)	17,93	17,05	13,06
gene13087-v1.0-hybrid	Putative F-box protein At1g65770 (probable)	0,48	0,40	0,40
gene13166-v1.0-hybrid	Trafficking protein particle complex subunit 1 (probable)	32,53	29,60	26,24
gene13170-v1.0-hybrid	Probable NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 5, mitochondrial, Precursor (putative)	95,22	92,18	78,03
gene13189-v1.0-hybrid	Heat shock protein 83 (similar to)	1,00	1,43	1,83
gene13208-v1.0-hybrid	Ethanolamine kinase 1 (EK1 1) (probable)	1,76	1,12	0,89
gene13329-v1.0-hybrid	Dehydration-responsive element-binding protein 1B (Protein DREB1B) (similar to)	3,17	2,29	0,55
gene13396-v1.0-hybrid	NADH-quinone oxidoreductase subunit I (probable)	0,13	0,17	0,29
gene13431-v1.0-hybrid	Methylosome subunit pI(Cln) (I(Cln)) (probable)	5,59	4,12	4,03
gene13447-v1.0-hybrid	Zinc finger MYM-type protein 1 (probable)	0,06	0,07	0,17
gene13500-v1.0-hybrid	Ubiquitin (similar to)	1,31	0,82	0,93
gene13527-v1.0-hybrid	Transmembrane protein 45B (probable)	1,41	1,69	1,89
gene13547-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 70	6,77	6,87	4,55
gene13595-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,33	0,37	0,48
gene13627-v1.0-hybrid	U1 small nuclear ribonucleoprotein 70 kDa (U1 snRNP 70 kDa) (probable)	0,08	0,25	0,48
gene13686-v1.0-hybrid	Disease resistance protein RPM1 (probable)	1,00	1,12	1,19
gene13740-v1.0-hybrid	Copia protease (probable)	4,77	5,27	13,29
gene13764-v1.0-hybrid	Copia protease (probable)	0,03	0,03	0,16
gene13783-v1.0-hybrid	Dehydration-responsive element-binding protein 2A (Protein DREB2A) (probable)	1,92	1,71	4,70
gene13803-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 33	3,29	3,81	11,43
gene13842-v1.0-hybrid	Flotillin-1 (probable)	48,23	48,23	159,02
gene13858-v1.0-hybrid	Auxin-induced protein 6B (probable)	0,00	0,10	0,09
gene13880-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g62680, mitochondrial, Precursor (probable)	0,66	0,57	1,10
gene13930-v1.0-hybrid	Activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 1 (AHA1) (probable)	0,04	0,06	0,15
gene13941-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g41170, mitochondrial, Precursor (probable)	0,03	0,04	0,11
gene13962-v1.0-hybrid	Zinc finger protein 1 (probable)	29,05	31,82	87,66

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene13982-v1.0-hybrid	Adenosine 3'-phospho 5'-phosphosulfate transporter 1 (probable)	0,47	0,54	0,93
gene13988-v1.0-hybrid	Protein RIC1 homolog (probable)	0,52	0,27	0,25
gene14054-v1.0-hybrid	Endonuclease (probable)	0,00	0,07	1,27
gene14078-v1.0-hybrid	Protein kinase APK1A, chloroplastic, Precursor (similar to)	0,30	0,26	0,52
gene14092-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g07590, mitochondrial, Precursor (similar to)	3,59	3,18	5,21
gene14216-v1.0-hybrid	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 6 (CI-B14) (probable)	94,70	93,93	75,19
gene14218-v1.0-hybrid	Interferon-induced guanylate-binding protein 1 (GBP-1) (probable)	0,00	0,00	0,05
gene14243-v1.0-hybrid	Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A (Glu-ADT subunit A) (probable)	0,33	0,24	0,00
gene14302-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1044152,1044171] 3-deoxy-manno-octulosonate cytidyltransferase (CKS) (similar to)	0,31	0,32	0,53
gene14316-v1.0-hybrid	Cucumisn, Precursor (probable)	0,00	0,02	0,07
gene14429-v1.0-hybrid	Xanthoxin dehydrogenase (similar to)	22,77	20,90	20,48
gene14482-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase SRPK3 (MSSK-1) (probable)	8,24	8,59	9,51
gene14488-v1.0-hybrid	Aspartic proteinase-like protein 2, Precursor (probable)	1,41	1,52	2,06
gene14558-v1.0-hybrid	SKP1-like protein 1A (SKP1-like 1) (similar to)	177,31	176,57	131,79
gene14587-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (similar to)	0,27	0,20	0,63
gene14721-v1.0-hybrid	GTP-binding protein era homolog (probable)	0,31	0,29	0,48
gene14733-v1.0-hybrid	Protein RER1B (AtRER1B) (similar to)	32,78	32,99	27,57
gene14748-v1.0-hybrid	Anaphase-promoting complex subunit 10 (APC10) (putative)	36,90	32,16	24,14
gene14774-v1.0-hybrid	Random slug protein 5 (probable)	18,50	16,67	21,49
gene14778-v1.0-hybrid	hypothetical protein	607,18	651,26	392,47
gene14832-v1.0-hybrid	Replication factor C subunit 1 (A1 140 kDa subunit) (probable)	0,71	1,03	1,38
gene14842-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2514775,2514794] Probable phenylalanyl-tRNA synthetase alpha chain (PheRS) (similar to)	4,85	4,43	5,38
gene14862-v1.0-hybrid	Auxin-induced protein 15A (similar to)	45,21	53,31	29,51
gene14877-v1.0-hybrid	Probable mitochondrial chaperone bcs1	0,02	0,02	0,12
gene14890-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase KIN3 (probable)	0,17	0,17	0,67
gene14900-v1.0-hybrid	Claspin homolog (probable)	1,35	1,28	3,90
gene14913-v1.0-hybrid	tRNA-dihydrouridine synthase 1-like (probable)	15,82	14,93	11,20
gene14916-v1.0-hybrid	UPF0651 protein P31B10.02, mitochondrial, Precursor (similar to)	133,63	126,61	83,65
gene14918-v1.0-hybrid	NHS-like protein 1 (probable)	0,02	0,02	0,12
gene14923-v1.0-hybrid	Epoxide hydrolase 2 (SEH) (probable)	1,55	1,87	2,95
gene14926-v1.0-hybrid	Peroxidase 72 (Atperox P72), Precursor (similar to)	0,49	0,47	0,18
gene14937-v1.0-hybrid	30S ribosomal protein S5 (probable)	2,35	1,85	1,53

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene15676-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1419722,1419741] p6-gag (probable)	0,42	0,28	1,80
gene15725-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [3118015,3118034] E3 ubiquitin-protein ligase KEG (probable)	22,34	21,39	25,71
gene15828-v1.0-hybrid	Probable receptor-like protein kinase At5g38990, Precursor	1,44	1,72	2,20
gene15839-v1.0-hybrid	G-protein coupled receptor 98, Precursor (probable)	8,22	7,10	5,14
gene15850-v1.0-hybrid	40S ribosomal protein S12 (similar to)	385,09	382,18	316,03
gene15861-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g41080 (probable)	0,63	0,31	0,31
gene15872-v1.0-hybrid	Heat stress transcription factor A-4b (OsHsf-04) (probable)	10,08	11,45	14,06
gene15909-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2024947,2024966] Nudix hydrolase 3 (AtNUDT3) (putative)	1,72	2,01	2,69
gene15917-v1.0-hybrid	UPF0518 protein FAM160A1 (probable)	9,00	9,08	12,37
gene15923-v1.0-hybrid	Organic cation transporter protein (probable)	5,14	5,80	9,68
gene15965-v1.0-hybrid	Probable serine/threonine-protein kinase DDB_G0278535	38,14	36,91	31,47
gene16136-v1.0-hybrid	GPI inositol-deacylase (probable)	0,02	0,03	0,19
gene16169-v1.0-hybrid	mRNA cap guanine-N7 methyltransferase 1 (similar to)	0,44	0,11	0,00
gene16180-v1.0-hybrid	Probable prenylcysteine oxidase, Precursor (similar to)	34,37	33,92	39,38
gene16230-v1.0-hybrid	RNA-binding protein 43 (probable)	586,17	547,23	432,55
gene16232-v1.0-hybrid	GTP cyclohydrolase-2, Precursor (similar to)	1,91	2,34	2,90
gene16327-v1.0-hybrid	Putative DNA helicase INO80 (probable)	8,51	8,65	11,37
gene16362-v1.0-hybrid	Type I inositol-1,4,5-trisphosphate 5-phosphatase CVP2 (similar to)	0,05	0,01	0,00
gene16377-v1.0-hybrid	Molybdenum cofactor biosynthesis protein A (Protein narA) (probable)	45,25	43,33	35,72
gene16431-v1.0-hybrid	UPF0467 protein At2g41420 (similar to)	8,50	12,90	10,51
gene16432-v1.0-hybrid	Sodium/hydrogen exchanger 2 (NHE-2) (similar to)	4,92	4,45	6,64
gene16441-v1.0-hybrid	Aspartic proteinase nepenthesin-1, Precursor (probable)	0,00	0,03	0,05
gene16479-v1.0-hybrid	Luminal-binding protein 3 (BiP3), Precursor (probable)	0,00	0,08	0,10
gene16481-v1.0-hybrid	Putative syntaxin-24 (AtSYP24) (probable)	39,79	44,56	131,75
gene16498-v1.0-hybrid	Histidinol-phosphate aminotransferase (probable)	3,95	1,90	4,95
gene16515-v1.0-hybrid	Sulfate/thiosulfate import ATP-binding protein cysA (probable)	1,57	1,24	1,11
gene16554-v1.0-hybrid	Small nuclear ribonucleoprotein-associated protein B (snRNP-B) (similar to)	0,33	0,21	0,12
gene16559-v1.0-hybrid	GDP-mannose 3,5-epimerase 1 (GDP-Man 3,5-epimerase 1)	83,20	79,78	119,72
gene16602-v1.0-hybrid	Myosin-J heavy chain (probable)	0,42	0,42	0,56
gene16700-v1.0-hybrid	Olfactory receptor 2A7 (probable)	1,36	1,59	2,62
gene16706-v1.0-hybrid	Aspartic proteinase sxa1, Precursor (probable)	0,09	0,11	0,24

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene16732-v1.0-hybrid	Serine incorporator 3 (probable)	20,55	22,87	24,21
gene16784-v1.0-hybrid	Protein encore (probable)	3,04	3,50	4,15
gene16786-v1.0-hybrid	Acyl-CoA dehydrogenase family member 10 (ACAD-10) (probable)	0,34	0,22	0,44
gene16791-v1.0-hybrid	Protein TRIGALACTOSYLDIACYLGLYCEROL 3, chloroplastic (ABC transporter ABC1.13), Precursor (similar to)	0,51	0,47	0,87
gene16822-v1.0-hybrid	hypothetical protein	59,49	60,82	51,08
gene16830-v1.0-hybrid	Ananain, Precursor (probable)	0,02	0,09	0,08
gene16840-v1.0-hybrid	Probable leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At1g35710, Precursor overlaps bad segment [99699,99937]	0,04	0,07	0,11
gene16852-v1.0-hybrid	2',3'-cyclic-nucleotide 2'-phosphodiesterase (probable)	0,05	0,04	0,02
gene16898-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At4g33170 (probable) overlaps bad segment [1355627,1355711]	0,69	0,35	0,24
gene16932-v1.0-hybrid	Protein VERNALIZATION INSENSITIVE 3 (probable)	1,09	1,01	1,53
gene16957-v1.0-hybrid	Probable helicase DDB_G0274399	0,13	0,30	0,30
gene16983-v1.0-hybrid	Secologanin synthase (SLS) (probable)	0,03	0,10	0,62
gene17042-v1.0-hybrid	RNA-directed RNA polymerase (probable) overlaps bad segment [429757,429992]	0,10	0,10	0,19
gene17092-v1.0-hybrid	Probable flavin-containing monooxygenase 1	0,94	1,04	1,97
gene17112-v1.0-hybrid	Phytosulfokine receptor 2 (AtPSKR2), Precursor (similar to)	0,71	0,72	1,15
gene17184-v1.0-hybrid	Synapsin-1 (probable)	0,11	0,11	0,00
gene17224-v1.0-hybrid	Filament-like plant protein 1 (AtFPP1) (probable)	1,35	1,46	2,46
gene17251-v1.0-hybrid	Chloroplast processing peptidase, Precursor (similar to)	0,02	0,01	0,08
gene17280-v1.0-hybrid	Mannosyl-oligosaccharide 1,2-alpha-mannosidase IA (Alpha-1,2-mannosidase IA) (probable) overlaps bad segment [2518332,2518351]	0,14	0,19	0,20
gene17287-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,00	0,02	0,07
gene17288-v1.0-hybrid	Protein CLEC16A homolog (probable)	0,37	0,41	0,60
gene17318-v1.0-hybrid	Probable serine/threonine-protein kinase Cx32, chloroplastic, Precursor (similar to)	5,21	4,98	7,06
gene17336-v1.0-hybrid	RING-H2 finger protein ATL1R (probable)	0,88	1,02	0,32
gene17358-v1.0-hybrid	Probable inactive purple acid phosphatase 2, Precursor (similar to)	0,26	0,10	0,13
gene17369-v1.0-hybrid	3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase 1 (HMG-CoA reductase 1) (putative)	60,37	67,68	90,37
gene17411-v1.0-hybrid	Large tegument protein UL36 (pUL36) (probable)	3,95	4,13	5,29
gene17418-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 82A3 (probable)	0,31	0,31	0,13
gene17430-v1.0-hybrid	Transcription factor bHLH78 (bHLH 78) (probable)	22,10	24,64	32,68
gene17472-v1.0-hybrid	Auxin-induced in root cultures protein 12, Precursor (probable)	0,38	0,41	0,62

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene17482-v1.0-hybrid	Probably inactive leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At5g48380, Precursor (similar to)	88,25	90,43	117,55
gene17506-v1.0-hybrid	Adrenodoxin-like protein, mitochondrial, Precursor (probable)	347,68	368,99	261,20
gene17517-v1.0-hybrid	Solute carrier family 35 member F5 (probable)	6,54	5,00	7,87
gene17577-v1.0-hybrid	Oleoyle-acyl carrier protein thioesterase, chloroplastic (18:0-ACP thioesterase), Precursor (similar to)	5,27	5,67	7,10
gene17602-v1.0-hybrid	Protein XRI1 (probable)	1,14	1,55	2,09
gene17606-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase pakA (probable)	2,58	2,50	4,58
gene17682-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [250735,250797] Putative ion channel DMI-1	0,40	0,46	0,73
gene17706-v1.0-hybrid	FK506-binding protein 4 (PPIase) (similar to)	0,26	0,12	0,03
gene17723-v1.0-hybrid	Transcription factor bHLH36 (bHLH 36) (probable)	1,53	0,99	0,62
gene17734-v1.0-hybrid	Transmembrane E3 ubiquitin-protein ligase 1 (probable)	1,05	1,12	1,60
gene17750-v1.0-hybrid	Two-component response regulator-like APRR2 (probable)	1,29	1,44	1,89
gene17786-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [949308,949327] GTP-binding protein typA/bipA homolog (probable)	0,16	0,18	0,22
gene17841-v1.0-hybrid	Type III restriction-modification system EcoPI enzyme mod (M.EcoPI) (probable)	0,25	0,17	0,00
gene18009-v1.0-hybrid	Collagen alpha-2(V) chain, Precursor (probable)	0,69	0,64	1,03
gene18090-v1.0-hybrid	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GSO2, Precursor (probable)	0,33	0,37	0,67
gene18101-v1.0-hybrid	Adenylate cyclase type 4 (similar to)	0,98	1,56	1,74
gene18136-v1.0-hybrid	ABC transporter G family member 22 (ABC transporter ABCG.22) (putative)	0,45	0,55	0,79
gene18213-v1.0-hybrid	Contactin-4 (BIG-2), Precursor (probable)	75,36	73,34	55,07
gene18254-v1.0-hybrid	Calcium-dependent protein kinase 1 (AtCDPK 1) (similar to)	0,00	0,02	0,05
gene18377-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1567245,1567917] Putative receptor protein kinase ZmPK1, Precursor (probable)	0,09	0,21	0,36
gene18387-v1.0-hybrid	30S ribosomal protein S16 (probable)	1,57	1,26	1,19
gene18425-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,05	0,05	0,13
gene18438-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 49	0,09	0,02	0,00
gene18487-v1.0-hybrid	Programmed cell death protein 2 (probable)	1,87	1,97	2,44
gene18599-v1.0-hybrid	Probably inactive receptor-like protein kinase At2g46850, Precursor (putative)	1,14	1,54	1,65
gene18699-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1447157,1447466] Proteasome subunit alpha type-7-A (similar to)	0,00	0,00	0,03
gene18706-v1.0-hybrid	Zinc finger MYM-type protein 1 (probable)	18,31	19,52	21,97
gene18774-v1.0-hybrid	Seed lectin subunit II, Precursor (probable)	67,05	64,44	78,81
gene18776-v1.0-hybrid	Heme-binding-like protein At3g10130, chloroplastic, Precursor (probable)	238,19	276,04	274,65

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene18779-v1.0-hybrid	hypothetical protein	49,55	46,82	57,52
gene18791-v1.0-hybrid	Probable steroid reductase DET2 (putative)	18,82	22,53	14,78
gene18843-v1.0-hybrid	Lactosylceramide 4-alpha-galactosyltransferase (probable)	22,67	24,26	31,10
gene18891-v1.0-hybrid	Arginine/serine-rich-splicing factor RSP41 (similar to)	0,13	0,17	0,19
gene18898-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [4072690,4072709] Cytochrome P450 71A24 (probable)	0,52	0,44	1,48
gene18928-v1.0-hybrid	Common plant regulatory factor 1 (CPRF-1) (putative)	0,00	0,01	0,09
gene18934-v1.0-hybrid	(+)-delta-cadinene synthase isozyme A (D-cadinene synthase A) (probable)	0,03	0,07	0,07
gene18982-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,29	0,23	0,56
gene19024-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2610704,2610953] Putative late blight resistance protein homolog R1A-3 (probable)	0,01	0,04	0,06
gene19042-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,91	0,74	1,19
gene19091-v1.0-hybrid	Mucin-2 (MUC-2), Precursor (probable)	0,05	0,00	1,63
gene19247-v1.0-hybrid	Superoxide-generating NADPH oxidase heavy chain subunit A (probable)	0,27	0,37	0,39
gene19342-v1.0-hybrid	F-box protein At4g12560 (probable)	1,21	0,86	2,89
gene19370-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 704C1 (probable)	2,45	2,82	2,01
gene19411-v1.0-hybrid	Probable S-acyltransferase At3g60800 (putative)	0,06	0,12	0,19
gene19475-v1.0-hybrid	DNA topoisomerase 2 (probable)	0,05	0,06	0,15
gene19577-v1.0-hybrid	RNA pseudourine synthase 6, chloroplastic, Precursor (putative)	0,08	0,11	0,16
gene19648-v1.0-hybrid	tRNA modification GTPase mnmE (probable)	0,00	0,00	0,07
gene19673-v1.0-hybrid	UDP-3-O-[3-hydroxymyristoyl] glucosamine N-acyltransferase (probable)	0,56	0,72	1,10
gene19727-v1.0-hybrid	Putative calcium-transporting ATPase 12, plasma membrane-type (probable)	0,04	0,14	0,19
gene19800-v1.0-hybrid	Phosphoribosylformylglycinamide synthase 2 (FGAM synthase II) (probable)	0,37	0,27	0,07
gene19802-v1.0-hybrid	NADH-ubiquinone oxidoreductase 21 kDa subunit (CI-21kD) (probable)	410,66	414,94	275,02
gene19803-v1.0-hybrid	Putative calcium-transporting ATPase 12, plasma membrane-type (probable)	0,14	0,27	0,76
gene19817-v1.0-hybrid	Putative protein FAR1-RELATED SEQUENCE 10	1,03	1,11	1,58
gene19818-v1.0-hybrid	Calcium-activated outward-rectifying potassium channel 1 (AtKCO1) (similar to)	0,13	0,32	0,42
gene19889-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [358856,358875] Zinc finger CCCH domain-containing protein 37 (AtC3H37) (similar to)	0,16	0,32	0,35
gene19975-v1.0-hybrid	Allantoate deiminase, chloroplastic (AtAAH), Precursor (similar to)	5,25	4,09	6,84
gene19998-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1001662,1001681] p2 (probable)	0,00	0,00	0,35
gene20022-v1.0-hybrid	Probable polygalacturonase (PG) (similar to)	4,03	4,04	5,40

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene20042-v1.0-hybrid	Protein crumbs, Precursor (probable)	2,21	2,17	3,11
gene20089-v1.0-hybrid	hypothetical protein	2,01	2,25	3,29
gene20095-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1619810,1619829] Pathogenesis-related protein PR-1, Precursor (similar to)	3,48	3,41	2,27
gene20147-v1.0-hybrid	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At2g23950, Precursor	0,11	0,11	0,02
gene20171-v1.0-hybrid	Reticuline oxidase-like protein, Precursor (probable)	0,00	0,05	0,12
gene20261-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (probable)	0,00	0,03	0,05
gene20299-v1.0-hybrid	WD repeat-containing protein 5 (putative)	64,53	58,93	52,58
gene20308-v1.0-hybrid	Probable steroid reductase DET2	5,40	6,16	7,99
gene20357-v1.0-hybrid	hypothetical protein	3,30	3,58	4,40
gene20388-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [320827,320846] Probable pectinesterase 29 (PE 29), Precursor (similar to)	0,56	0,70	0,82
gene20397-v1.0-hybrid	Fatty acid/phospholipid synthesis protein plsX (probable)	0,00	0,00	0,05
gene20517-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase 6 (Aurora-A) (probable)	0,01	0,01	0,05
gene20527-v1.0-hybrid	Tetratricopeptide repeat protein 1 (TPR repeat protein 1) (probable)	0,15	0,19	0,32
gene20550-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [225699,225724] Cellulose synthase-like protein E6 (similar to)	0,03	0,03	0,06
gene20559-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [127760,128621] Transcription factor bHLH151 (bHLH 151) (probable)	0,13	0,11	0,05
gene20564-v1.0-hybrid	Uncharacterized mitochondrial protein AtMg00810 (similar to)	0,00	0,01	0,04
gene20578-v1.0-hybrid	SWR1-complex protein 4 (probable)	0,74	0,50	1,09
gene20625-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [565424,565443] Transducin-like enhancer protein 6 (probable)	1,27	1,17	1,68
gene20643-v1.0-hybrid	Beta-glucosidase 15 (AtBGLU15), Precursor (putative)	6,50	6,71	14,12
gene20658-v1.0-hybrid	Carbamoyl-phosphate synthase small chain (probable)	15,26	14,54	17,23
gene20686-v1.0-hybrid	Protein CUP-SHAPED COTYLEDON 2 (ANAC098) (similar to)	13,36	12,75	24,06
gene20697-v1.0-hybrid	Probable mannitol dehydrogenase (putative)	0,00	0,05	0,12
gene20753-v1.0-hybrid	Undecaprenyl-diphosphatase (probable)	0,07	0,06	0,39
gene20825-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [326532,327070] Putative U-box domain-containing protein 50 (probable)	0,09	0,12	0,28
gene20831-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase PBS1 (probable)	0,11	0,09	0,05
gene20839-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [423561,423580] Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase (probable)	0,46	0,53	1,30
gene20842-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [439495,439514] 60S ribosomal protein L9-1 (probable)	0,02	0,15	0,26

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene20851-v1.0-hybrid	Mannose-1-phosphate guanylyltransferase beta (putative)	69,23	64,62	80,91
gene20951-v1.0-hybrid	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase ((1->3)-beta-glucanase), Precursor (probable)	0,24	0,37	0,72
gene20982-v1.0-hybrid	Zinc finger CCCH domain-containing protein 29 (AtC3H29) (putative)	71,82	71,99	126,38
gene20991-v1.0-hybrid	Lipid-A-disaccharide synthase (probable)	0,16	0,10	0,07
gene21046-v1.0-hybrid	Assembly protein (probable)	0,08	0,04	0,04
gene21166-v1.0-hybrid	Ethylene-responsive transcription factor 5 (EREBP-4) (probable)	134,26	124,77	238,98
gene21183-v1.0-hybrid	Putative expansin-B2 (At-EXPB2), Precursor (similar to)	0,20	0,09	0,03
gene21214-v1.0-hybrid	Spore protein SP21 (probable)	7,10	6,52	3,30
gene21293-v1.0-hybrid	Wound-induced protein 1 (similar to)	42,48	49,15	60,32
gene21295-v1.0-hybrid	Nascent polypeptide-associated complex subunit alpha, muscle-specific form (probable)	32,35	34,55	41,39
gene21317-v1.0-hybrid	Putative iron-sulfur cluster insertion protein erpA (probable)	1,84	1,86	3,46
gene21319-v1.0-hybrid	CBL-interacting protein kinase 18 (putative)	0,00	0,06	0,18
gene21371-v1.0-hybrid	E3 ubiquitin-protein ligase SHPRH (probable)	0,10	0,12	0,28
gene21390-v1.0-hybrid	WD repeat domain phosphoinositide-interacting protein 3 (WIPI-3) (probable)	14,54	12,74	18,71
gene21410-v1.0-hybrid	Metacaspase-1 (AtMCP1b) (putative)	4,28	4,94	6,74
gene21413-v1.0-hybrid	Anaphase-promoting complex subunit cdc20 (probable)	0,22	0,13	0,07
gene21437-v1.0-hybrid	Crooked neck-like protein 1 (hCm) (probable)	0,00	0,01	0,02
gene21441-v1.0-hybrid	Ethanolamine kinase (probable)	1,53	1,53	1,88
gene21459-v1.0-hybrid	Cytosolic carboxypeptidase-like protein 5 (probable)	0,63	0,16	0,08
gene21468-v1.0-hybrid	ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit 3, chloroplastic (nClpP3), Precursor (similar to)	2,57	2,72	2,92
gene21498-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g33680 (similar to)	0,71	0,50	0,39
gene21511-v1.0-hybrid	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC2 (RNA polymerase III subunit C2) (similar to)	0,07	0,12	0,12
gene21519-v1.0-hybrid	Calreticulin-3, Precursor (similar to)	9,03	9,10	13,16
gene21521-v1.0-hybrid	Dehydrogenase/reductase SDR family member 7 (retSDR4), Precursor (probable)	1,13	1,24	1,98
gene21532-v1.0-hybrid	Probable E3 ubiquitin-protein ligase ARI8 (putative)	1,93	1,87	2,73
gene21539-v1.0-hybrid	HIV Tat-specific factor 1 homolog (probable)	1,51	1,59	1,99
gene21542-v1.0-hybrid	Transcriptional regulator Kaiso (probable)	0,09	0,06	0,16
gene21599-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g65560 (probable)	0,40	0,59	0,79
gene21603-v1.0-hybrid	Putative calcium-transporting ATPase 13, plasma membrane-type (probable) overlaps bad segment [28499,28837]	0,19	0,27	1,09
gene21618-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,21	0,11	0,00

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene21637-v1.0-hybrid	Sensor histidine kinase yesM (probable)	0,20	0,10	0,00
gene21668-v1.0-hybrid	F-box protein SKIP16 (similar to)	4,75	4,66	5,55
gene21761-v1.0-hybrid	conserved hypothetical protein	12,80	12,59	8,87
gene21811-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [37544,37563] TMV resistance protein N (probable)	0,34	0,30	0,24
gene21830-v1.0-hybrid	Transcription factor TFIIIB component B ⁺ (probable)	0,14	0,18	0,23
gene21858-v1.0-hybrid	DNA repair protein rhp54 (probable)	1,55	1,87	2,51
gene21863-v1.0-hybrid	Tyrosine-protein kinase SgK223 (probable)	0,04	0,04	0,10
gene21945-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [624797,624831] UDP-N-acetylglucosamine--dolichyl-phosphate N-acetylglucosaminophosphotransferase (G1PT) (probable)	4,91	4,74	6,28
gene21978-v1.0-hybrid	Papilin, Precursor (probable)	0,01	0,01	0,00
gene22056-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g27610 (similar to)	0,30	0,60	0,69
gene22063-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [778014,778066] Fatty acyl-CoA reductase 3 (probable)	0,04	0,04	0,00
gene22184-v1.0-hybrid	Saccharopine dehydrogenase [NAD ⁺ , L-lysine-forming] (SDH) (probable)	4,57	4,06	5,74
gene22305-v1.0-hybrid	Sodium/hydrogen exchanger 1 (NHE-1) (probable)	1,38	1,48	1,91
gene22314-v1.0-hybrid	Kinesin-like protein KIF2B (probable)	0,25	0,37	0,12
gene22379-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 19	0,19	0,07	0,37
gene22389-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [828408,828427] Carboxyvinyl-carboxyphosphonate phosphorylmutase (CPEP phosphonmutase) (probable)	2,57	2,66	2,90
gene22407-v1.0-hybrid	UPF0114 protein in repA1-repA2 intergenic region (probable)	0,00	0,13	0,16
gene22444-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At4g39620, chloroplastic, Precursor (similar to)	2,38	2,12	3,22
gene22466-v1.0-hybrid	Protein LIM3, Precursor (probable)	2,91	1,59	0,25
gene22472-v1.0-hybrid	Vacuolar protein sorting-associated protein 36 (AtVPS36) (similar to)	0,32	0,39	0,59
gene22629-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [126153,126172] DNA polymerase delta small subunit (similar to)	0,23	0,18	0,42
gene22642-v1.0-hybrid	Omega-6 fatty acid desaturase, endoplasmic reticulum isozyme 2 (putative)	93,53	94,46	80,11
gene22720-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [83168,83537] snRNA-activating protein complex subunit 3 (SNAPc subunit 3) (probable)	0,34	0,37	0,49
gene22791-v1.0-hybrid	Putative prolyl-tRNA synthetase C19C7.06 (ProRS) (similar to)	15,84	16,91	21,32
gene22804-v1.0-hybrid	Protein FAR1-RELATED SEQUENCE 4 (probable)	3,57	3,55	4,95
gene22845-v1.0-hybrid	ATP-dependent helicase 41 (probable)	0,05	0,05	0,68
gene22852-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [298501,298520] F-box/kelch-repeat protein At1g57790 (probable)	0,14	0,24	0,39
gene22873-v1.0-hybrid	Nudix hydrolase 12, mitochondrial (AtNUDT12), Precursor (similar to)	0,58	0,51	1,39

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene21637-v1.0-hybrid	Sensor histidine kinase yesM (probable)	0,20	0,10	0,00
gene21668-v1.0-hybrid	F-box protein SKIP16 (similar to)	4,75	4,66	5,55
gene21761-v1.0-hybrid	conserved hypothetical protein overlaps bad segment [37544,37563] TMV	12,80	12,59	8,87
gene21811-v1.0-hybrid	resistance protein N (probable)	0,34	0,30	0,24
gene21830-v1.0-hybrid	Transcription factor TFIIIB component B" (probable)	0,14	0,18	0,23
gene21858-v1.0-hybrid	DNA repair protein rhp54 (probable)	1,55	1,87	2,51
gene21863-v1.0-hybrid	Tyrosine-protein kinase SgK223 (probable)	0,04	0,04	0,10
gene21945-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [624797,624831] UDP-N-acetylglucosamine--dolichyl-phosphate N-acetylglucosaminophosphotransferase (G1PT) (probable)	4,91	4,74	6,28
gene21978-v1.0-hybrid	Papilin, Precursor (probable)	0,01	0,01	0,00
gene22056-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g27610 (similar to)	0,30	0,60	0,69
gene22063-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [778014,778066] Fatty acyl-CoA reductase 3 (probable)	0,04	0,04	0,00
gene22184-v1.0-hybrid	Saccharopine dehydrogenase [NAD+, L-lysine-forming] (SDH) (probable)	4,57	4,06	5,74
gene22305-v1.0-hybrid	Sodium/hydrogen exchanger 1 (NHE-1) (probable)	1,38	1,48	1,91
gene22314-v1.0-hybrid	Kinesin-like protein KIF2B (probable)	0,25	0,37	0,12
gene22379-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 19	0,19	0,07	0,37
gene22389-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [828408,828427] Carboxyvinyl-carboxyphosphonate phosphorylmutase (CPEP phosphonmutase) (probable)	2,57	2,66	2,90
gene22407-v1.0-hybrid	UPF0114 protein in repA1-repA2 intergenic region (probable)	0,00	0,13	0,16
gene22444-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At4g39620, chloroplastic, Precursor (similar to)	2,38	2,12	3,22
gene22466-v1.0-hybrid	Protein LIM3, Precursor (probable)	2,91	1,59	0,25
gene22472-v1.0-hybrid	Vacuolar protein sorting-associated protein 36 (AtVPS36) (similar to)	0,32	0,39	0,59
gene22629-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [126153,126172] DNA polymerase delta small subunit (similar to)	0,23	0,18	0,42
gene22642-v1.0-hybrid	Omega-6 fatty acid desaturase, endoplasmic reticulum isozyme 2 (putative)	93,53	94,46	80,11
gene22720-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [83168,83537] snRNA-activating protein complex subunit 3 (SNAPc subunit 3) (probable)	0,34	0,37	0,49
gene22791-v1.0-hybrid	Putative prolyl-IRNA synthetase C19C7.06 (ProRS) (similar to)	15,84	16,91	21,32
gene22804-v1.0-hybrid	Protein FAR1-RELATED SEQUENCE 4 (probable)	3,57	3,55	4,95
gene22845-v1.0-hybrid	ATP-dependent helicase 41 (probable)	0,05	0,05	0,68
gene22852-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [298501,298520] F-box/kelch-repeat protein At1g57790 (probable)	0,14	0,24	0,39
gene22873-v1.0-hybrid	Nudix hydrolase 12, mitochondrial (AtNUDT12), Precursor (similar to)	0,58	0,51	1,39

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene22878-v1.0-hybrid	Pescadillo homolog (probable)	2,41	2,45	3,15
gene22957-v1.0-hybrid	Peptide transporter PTR1 (probable)	0,07	0,07	0,13
gene23007-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [786756,787937] Oxidation resistance protein 1 (probable)	0,12	0,14	0,78
gene23042-v1.0-hybrid	COP9 signalosome complex subunit 7 (Signalosome subunit 7) (probable)	20,29	21,14	15,22
gene23147-v1.0-hybrid	DnaJ protein homolog 2 (putative)	264,10	288,43	306,29
gene23211-v1.0-hybrid	E3 SUMO-protein ligase SIZ1 (probable)	0,50	0,64	0,84
gene23277-v1.0-hybrid	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 1 (RPN-I), Precursor (probable)	20,80	21,10	25,37
gene23278-v1.0-hybrid	Zinc finger protein 585A (probable)	0,11	0,13	0,24
gene23284-v1.0-hybrid	Phosphomannomutase/phosphoglucomutase (PMM / PGM) (probable)	5,68	5,44	7,13
gene23322-v1.0-hybrid	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase small subunit, chloroplastic/amyloplastic, Precursor (similar to)	0,03	0,01	0,01
gene23330-v1.0-hybrid	Cyclic nucleotide-gated ion channel 1 (ATCNGC1) (probable)	0,29	0,47	0,73
gene23376-v1.0-hybrid	Exocyst complex component 7 (rExo70) (probable)	0,51	0,71	1,15
gene23385-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1740221,1740240] Glutathione S-transferase DHAR1, mitochondrial (GSH-dependent dehydroascorbate reductase 1) (probable)	0,11	0,11	0,00
gene23386-v1.0-hybrid	Glutathione S-transferase DHAR1, mitochondrial (GSH-dependent dehydroascorbate reductase 1) (putative)	0,27	0,11	0,08
gene23515-v1.0-hybrid	DNA polymerase epsilon catalytic subunit A (DNA polymerase II subunit A) (similar to)	0,06	0,07	0,12
gene23533-v1.0-hybrid	Calcium-activated outward-rectifying potassium channel 1 (ATKCO1) (putative)	11,94	9,26	15,70
gene23577-v1.0-hybrid	Lysine histidine transporter-like 1 (probable)	0,04	0,08	0,13
gene23598-v1.0-hybrid	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase EFR (EF-Tu receptor), Precursor (probable)	0,78	0,72	1,19
gene23616-v1.0-hybrid	hypothetical protein	4,83	4,48	3,82
gene23621-v1.0-hybrid	ATPase GET3 (probable)	0,16	0,18	1,11
gene23626-v1.0-hybrid	Splicing factor, arginine/serine-rich 12 (SRp86) (probable)	7,20	6,88	9,44
gene23639-v1.0-hybrid	Putative membrane protein ycf1 (RF1) (probable)	1,29	1,76	3,07
gene23663-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,00	0,11	0,27
gene23671-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [877863,878073] Serine/threonine-protein kinase (probable)	0,01	0,03	0,07
gene23757-v1.0-hybrid	Caffeic acid 3-O-methyltransferase (CAOMT) (probable)	1,92	1,35	1,19
gene23800-v1.0-hybrid	BES1/BZR1 homolog protein 3 (similar to)	1,11	1,25	1,61
gene23849-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (similar to)	0,07	0,07	0,36
gene23851-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [995615,995634] TMV resistance protein N (probable)	0,51	0,43	1,30

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene23862-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 15 (similar to)	3,36	3,82	5,19
gene23922-v1.0-hybrid	Neurogenic locus notch protein homolog (xOTCH), Precursor (probable)	1,77	1,86	1,00
gene23925-v1.0-hybrid	Period circadian protein (probable)	0,34	0,33	1,87
gene23978-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase WNK8 (AtWNK8) (probable)	0,83	0,74	0,51
gene24052-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1510399,1511160] B3 domain-containing protein Os01g0234100 (probable)	0,41	0,30	0,31
gene24086-v1.0-hybrid	50S ribosomal protein L25 (probable)	22,32	21,33	17,08
gene24113-v1.0-hybrid	Protein kinase APK1A, chloroplastic, Precursor (similar to)	0,53	0,78	0,99
gene24117-v1.0-hybrid	Probable disease resistance protein At5g66900	0,04	0,02	0,11
gene24120-v1.0-hybrid	Probable disease resistance protein At5g66900 (similar to)	1,46	1,29	2,51
gene24128-v1.0-hybrid	Probable helicase DDB_G0274399	0,25	0,30	0,59
gene24163-v1.0-hybrid	Naphthalene 1,2-dioxygenase system ferredoxin subunit (probable)	16,05	17,04	17,81
gene24274-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [88599,88618] Vacuolar protein sorting-associated protein 53 homolog (probable)	0,50	0,55	0,88
gene24288-v1.0-hybrid	F-box protein At4g12560 (probable)	0,84	0,89	1,17
gene24292-v1.0-hybrid	Putative laccase-9, Precursor (probable)	0,00	0,03	0,06
gene24309-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [293115,293266] Cytokinin-O-glucosyltransferase 2 (AtZOG2) (probable)	0,10	0,13	0,23
gene24313-v1.0-hybrid	Cytokinin-O-glucosyltransferase 2 (AtZOG2) (similar to)	2,47	2,40	5,62
gene24315-v1.0-hybrid	Cytokinin-O-glucosyltransferase 2 (AtZOG2) (probable)	0,20	0,20	0,47
gene24316-v1.0-hybrid	Protease Do-like 9 (similar to)	4,99	4,57	2,91
gene24325-v1.0-hybrid	UDP-arabinose 4-epimerase 1 (putative)	1,26	1,13	2,74
gene24335-v1.0-hybrid	UPF0467 protein B (probable)	56,54	68,00	106,29
gene24336-v1.0-hybrid	hypothetical protein	8,29	10,85	14,98
gene24416-v1.0-hybrid	NAD-dependent malic enzyme (NAD-ME) (probable)	3,38	2,66	6,75
gene24430-v1.0-hybrid	Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH], chloroplastic, Precursor (putative)	2,22	2,53	3,07
gene24443-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [309497,309516] Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1 (MAP kinase kinase kinase 1) (similar to)	0,17	0,12	0,52
gene24446-v1.0-hybrid	Formin-like protein 20 (AtFH20) (similar to)	0,24	0,44	0,70
gene24452-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [11604,11623] Superoxide dismutase [Cu-Zn], chloroplastic, Precursor (similar to)	1,95	1,89	0,76
gene24498-v1.0-hybrid	Putative AC9 transposase (probable)	0,17	0,59	0,71
gene24621-v1.0-hybrid	DNA-binding protein RFX2 (probable)	5,97	5,90	7,53
gene24690-v1.0-hybrid	Squalene monooxygenase (SE) (putative)	2,59	2,27	4,12
gene24691-v1.0-hybrid	Squalene monooxygenase (SE) (putative)	1,19	1,43	2,67

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene24734-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (similar to)	0,12	0,16	0,26
gene24751-v1.0-hybrid	E3 ubiquitin-protein ligase BRE1-like 2 (ATHUB2) (putative)	1,83	1,81	2,91
gene24784-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [449001,449020] Serine protease HTRA2, mitochondrial (HtrA2), Precursor (probable)	0,02	0,04	0,10
gene24855-v1.0-hybrid	GDSL esterase/lipase At1g29670, Precursor (similar to)	0,46	0,42	0,25
gene24882-v1.0-hybrid	Ribosome maturation factor rimM (probable)	1,16	1,34	2,91
gene25013-v1.0-hybrid	Ripening-related protein grip22, Precursor (probable)	0,00	0,00	0,61
gene25020-v1.0-hybrid	Histidine-rich protein PFHRP-II, Precursor (probable)	1,22	0,97	1,93
gene25048-v1.0-hybrid	Probable serine/threonine-protein kinase abkC	1,75	1,99	2,57
gene25050-v1.0-hybrid	Diacylglycerol kinase alpha (DAG kinase alpha) (probable)	0,61	0,44	1,13
gene25080-v1.0-hybrid	12-oxophytodienoate reductase 1 (OPDA-reductase 1) (similar to)	0,41	0,49	0,84
gene25084-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [821726,821745] Ensconsin (MAP-7) (probable)	0,00	0,00	0,04
gene25127-v1.0-hybrid	Probable serine/threonine-protein kinase At1g18390, Precursor	0,18	1,01	0,61
gene25128-v1.0-hybrid	Probable serine/threonine-protein kinase At1g18390, Precursor (similar to)	0,79	1,01	1,17
gene25131-v1.0-hybrid	Interleukin-7 receptor subunit alpha (IL-7R-alpha), Precursor (probable)	0,54	0,75	1,30
gene25220-v1.0-hybrid	Calcium-dependent protein kinase 32 (putative)	32,04	32,49	41,58
gene25230-v1.0-hybrid	Serine carboxypeptidase-like 19 chain B, Precursor (probable)	3,41	3,08	5,12
gene25264-v1.0-hybrid	Syntaxin-112 (AtSYP112) (putative)	0,81	0,81	0,34
gene25286-v1.0-hybrid	40S ribosomal protein S5 (similar to)	0,00	0,00	0,21
gene25344-v1.0-hybrid	S-antigen protein, Precursor (probable)	0,06	0,02	0,00
gene25390-v1.0-hybrid	Mitogen-activated protein kinase 3 (MAP kinase 3) (similar to)	16,61	15,09	24,37
gene25502-v1.0-hybrid	Alpha-1B adrenergic receptor (probable)	1,99	1,93	2,52
gene25530-v1.0-hybrid	hypothetical protein	18,08	15,52	18,95
gene25580-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [947802,947821] Glycogen synthase (probable)	0,01	0,00	0,10
gene25605-v1.0-hybrid	Glutamate receptor 2.8, Precursor (probable)	0,01	0,02	0,06
gene25615-v1.0-hybrid	Glutamate receptor 2.8, Precursor (similar to)	0,36	0,32	1,19
gene25629-v1.0-hybrid	Ankyrin repeat-containing protein At5g02620 (probable)	1,45	1,76	8,88
gene25648-v1.0-hybrid	Polyribonucleotide nucleotidyltransferase (PNPase) (probable)	0,06	0,06	0,01
gene25686-v1.0-hybrid	DUF246 domain-containing protein At1g04910 (probable)	0,63	0,70	0,88
gene25746-v1.0-hybrid	Probable receptor-like protein kinase At2g42960	1,95	2,05	2,59
gene25787-v1.0-hybrid	Epoxide hydrolase 2 (SEH) (probable)	43,69	44,25	35,03

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene25805-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [904294,904313] Glucan endo-1,3-beta-glucosidase-like protein 3, Precursor (similar to)	14,59	13,94	10,46
gene25838-v1.0-hybrid	Rop guanine nucleotide exchange factor 1 (RopGEF1) (similar to)	0,25	0,12	0,06
gene25995-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [281681,281700] TMV resistance protein N (probable)	0,39	0,36	0,26
gene26021-v1.0-hybrid	Disulfide bond formation protein B 2 (probable)	0,30	0,40	1,09
gene26072-v1.0-hybrid	N-acetyltransferase ESCO1 (ESCO1 homolog 1) (probable)	0,14	0,17	0,38
gene26084-v1.0-hybrid	Respiratory burst oxidase homolog protein A (probable)	0,04	0,01	0,14
gene26087-v1.0-hybrid	Glycine-rich RNA-binding protein 2, mitochondrial (AtGRP2), Precursor (probable)	259,96	248,79	212,47
gene26131-v1.0-hybrid	Putative ATP-dependent helicase hrq1 (probable)	0,07	0,06	0,10
gene26163-v1.0-hybrid	Protease 4 homolog (probable)	0,31	0,17	0,18
gene26262-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1044645,1044965] Cell division control protein 2 homolog D (probable)	0,01	0,01	0,08
gene26278-v1.0-hybrid	Membrane-associated guanylate kinase, WW and PDZ domain-containing protein 1 (BAP-1) (probable)	18,34	15,63	13,54
gene26343-v1.0-hybrid	NAD-dependent epimerase/dehydratase (probable)	2,58	2,50	4,68
gene26411-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [464570,464612] F-box/kelch-repeat protein At3g23880 (probable)	1,52	1,62	2,60
gene26448-v1.0-hybrid	Homeobox protein ARX (similar to)	0,00	0,13	0,39
gene26572-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [514060,514498] TMV resistance protein N (similar to)	1,74	1,42	3,17
gene26596-v1.0-hybrid	Protein kinase APK1A, chloroplastic, Precursor (similar to)	8,18	8,55	10,18
gene26613-v1.0-hybrid	Heat shock 70 kDa protein (similar to)	5,03	4,81	7,07
gene26748-v1.0-hybrid	DUF246 domain-containing protein At1g04910 (probable)	1,21	1,32	2,45
gene26821-v1.0-hybrid	Arginine-glutamic acid dipeptide repeats protein (probable)	0,83	0,48	0,00
gene26822-v1.0-hybrid	RING1 and YY1-binding protein (DED-associated factor) (probable)	0,04	0,30	0,30
gene26875-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g40400 (similar to)	0,12	0,05	0,22
gene26981-v1.0-hybrid	Centrosomal protein of 192 kDa (Cep192) (probable)	0,01	0,02	0,05
gene27026-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [50132,50151] Transcriptional activator protein Pur-alpha (probable)	0,07	0,04	0,02
gene27037-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [128495,128514] Alanine racemase (probable)	0,00	0,00	0,05
gene27136-v1.0-hybrid	LYR motif-containing protein 7 (probable)	175,17	178,10	131,99
gene27166-v1.0-hybrid	Calmodulin (CaM) (probable)	0,16	0,20	0,33
gene27254-v1.0-hybrid	Epidermis-specific secreted glycoprotein EP1, Precursor (similar to)	0,00	0,03	0,10

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene28103-v1.0-hybrid	Transcription factor RF2b (similar to)	5,21	4,70	5,61
gene28132-v1.0-hybrid	CBL-interacting serine/threonine-protein kinase 11 (putative)	10,50	11,15	13,09
gene28147-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g62720 (probable)	2,81	3,14	1,55
gene28157-v1.0-hybrid	BUD13 homolog (probable)	0,08	0,00	0,42
gene28174-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 33 (similar to)	1,21	1,14	2,65
gene28190-v1.0-hybrid	Male-enhanced antigen 1 (MEA-1) (probable)	131,36	128,26	104,31
gene28310-v1.0-hybrid	Protein DSE1 (similar to)	593,12	593,87	392,57
gene28321-v1.0-hybrid	hypothetical protein	10,96	11,74	17,34
gene28344-v1.0-hybrid	Zinc finger AN1 domain-containing stress-associated protein 12 (AtSAP12) (putative)	52,20	47,40	91,75
gene28351-v1.0-hybrid	Protein teflon (probable)	14,44	14,95	19,16
gene28352-v1.0-hybrid	GPI ethanolamine phosphate transferase 1 (probable)	5,44	6,68	9,18
gene28371-v1.0-hybrid	UPF0477 protein BcerKBAB4_1135 (probable)	96,20	101,27	89,82
gene28397-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [918303,918322] Protein SAMHD1 homolog (probable)	0,84	0,85	1,33
gene28404-v1.0-hybrid	E3 ubiquitin-protein ligase RLIM (R-LIM) (probable)	0,43	0,32	0,20
gene28414-v1.0-hybrid	L-aspartate oxidase 1 (LASPO 1) (probable)	0,47	0,45	1,23
gene28438-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1120020,1120039] Polygalacturonase At1g48100 (PG), Precursor (similar to)	0,37	0,36	0,26
gene28452-v1.0-hybrid	Zinc finger protein 1 (probable)	0,45	0,45	2,38
gene28492-v1.0-hybrid	TD and POZ domain-containing protein 3 (probable)	0,01	0,01	0,03
gene28547-v1.0-hybrid	Cold-regulated protein BLT14 (probable)	0,11	0,22	0,43
gene28618-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [8767,9112] ABC transporter G family member 28 (ABC transporter ABCG.28) (similar to)	0,03	0,01	0,07
gene28686-v1.0-hybrid	Secretion-regulating guanine nucleotide exchange factor (DelGEF) (probable)	6,97	7,16	8,02
gene28700-v1.0-hybrid	Xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase protein 22 (At-XTH22), Precursor (similar to)	0,52	0,49	0,69
gene28767-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [728049,728068] hypothetical protein	0,16	0,13	0,25
gene28839-v1.0-hybrid	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase-like 4 (PPIase) (probable)	0,99	0,60	0,00
gene28897-v1.0-hybrid	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating], mitochondrial (MMSDH), Precursor (similar to)	1,16	1,12	1,61
gene28955-v1.0-hybrid	Stonustoxin subunit alpha (SNTX subunit alpha) (probable)	0,02	0,00	0,07
gene28997-v1.0-hybrid	Polygalacturonase (PG), Precursor (probable)	0,26	0,08	0,77
gene29001-v1.0-hybrid	Cysteine-rich receptor-like protein kinase 41 (Cysteine-rich RLK41), Precursor (similar to)	0,20	0,28	0,46
gene29016-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [267650,267669] Vesicle-fusing ATPase (similar to)	0,03	0,02	0,08

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene29040-v1.0-hybrid	CAX-interacting protein 4 (probable)	0,11	0,13	0,31
gene29048-v1.0-hybrid	Putative AC9 transposase (probable)	0,08	0,04	0,27
gene29097-v1.0-hybrid	UPF0420 protein C16orf58 homolog (probable)	0,32	0,36	0,53
gene29116-v1.0-hybrid	Serine/arginine repetitive matrix protein 1 (probable)	50,54	47,89	37,31
gene29214-v1.0-hybrid	IMP cyclohydrolase (probable)	0,03	0,03	0,10
gene29246-v1.0-hybrid	Putative ribonuclease H protein At1g65750 (probable)	0,00	0,00	0,05
gene29263-v1.0-hybrid	Histone deacetylase 9 (putative)	0,85	0,80	1,07
gene29268-v1.0-hybrid	Telomeric repeat-binding factor 2 (probable)	0,20	0,23	0,09
gene29355-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [179115,179134] NitU-like protein 2, chloroplastic (AtCNfu2), Precursor (similar to)	71,13	78,29	98,82
gene29407-v1.0-hybrid	Keratin, type I cytoskeletal 15 (CK-15) (probable)	25,82	24,89	8,29
gene29465-v1.0-hybrid	Lipopolysaccharide core biosynthesis mannosyltransferase lpcC (probable)	1,59	1,24	0,69
gene29522-v1.0-hybrid	Farnesyltransferase, Precursor (putative)	87,04	86,74	51,08
gene29616-v1.0-hybrid	Multidrug and toxin extrusion protein 1 (MATE-1) (probable)	0,23	0,18	0,06
gene29657-v1.0-hybrid	Putative lipase YDL109C (probable)	1,92	1,74	2,60
gene29692-v1.0-hybrid	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570, Precursor	0,00	0,00	0,03
gene29710-v1.0-hybrid	Probable complex I intermediate-associated protein 30	0,89	0,72	1,40
gene29711-v1.0-hybrid	B-cell lymphoma 6 protein homolog (probable)	7,77	7,01	14,01
gene29734-v1.0-hybrid	Receptor-like protein kinase At3g21340, Precursor (probable)	5,03	4,97	8,22
gene29751-v1.0-hybrid	DnaJ homolog subfamily B member 1 (Heat shock protein 40) (probable)	99,25	108,42	123,84
gene29893-v1.0-hybrid	Chromosome transmission fidelity protein 18 homolog (probable)	0,10	0,13	0,16
gene29941-v1.0-hybrid	Putative membrane protein ycf1 (probable)	0,00	0,00	0,08
gene30019-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [210386,210405] Synaptonemal complex protein 1 (similar to)	0,13	0,22	0,25
gene30133-v1.0-hybrid	Putative RNA-binding protein ylmH (probable)	0,02	0,04	0,13
gene30163-v1.0-hybrid	Transcription initiation factor TFIID subunit 1 (probable)	0,39	0,35	0,61
gene30172-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [93403,93422] Scarecrow-like protein 14 (AtSCL14) (probable)	4,43	4,50	6,66
gene30177-v1.0-hybrid	Scarecrow-like protein 33 (AtSCL33) (probable)	2,31	2,56	4,21
gene30183-v1.0-hybrid	Argininosuccinate lyase (ASAL) (probable)	0,61	0,68	1,42
gene30199-v1.0-hybrid	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570, Precursor	3,79	4,31	9,01
gene30206-v1.0-hybrid	Chaperone protein dnaJ (similar to)	4,05	4,07	4,98
gene30235-v1.0-hybrid	ATP-dependent RNA helicase DBP10 (probable)	0,22	0,06	0,00

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene30255-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [813414,813433] Polycystic kidney disease protein 1-like 3, Precursor (probable)	0,02	0,03	0,04
gene30278-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [993126,993145] Dihydrolipoyllysine-residue acetyltransferase component of acetoin cleaving system (FMP) (probable)	35,65	39,95	42,25
gene30282-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1003495,1003935] Putative syntaxin-24 (AtSYP24) (probable)	0,19	0,16	0,10
gene30363-v1.0-hybrid	Uncharacterized mitochondrial protein AtMg00310 (similar to)	3,58	3,29	2,84
gene30386-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [595285,595304] Probable disease resistance protein At4g27220	0,53	0,45	0,71
gene30427-v1.0-hybrid	Transposase for transposon Tn3926 (probable)	4,84	3,92	7,31
gene30470-v1.0-hybrid	Probable NADH dehydrogenase	0,05	0,13	0,10
gene30492-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [425416,425804] Potassium channel SKOR (similar to)	0,13	0,15	0,32
gene30644-v1.0-hybrid	Putative serine/threonine-protein kinase receptor (SRK), Precursor (probable)	0,44	0,33	0,94
gene30673-v1.0-hybrid	UPF0717 protein At5g11950 (similar to)	1,65	1,71	2,76
gene30694-v1.0-hybrid	Polyadenylate-binding protein, cytoplasmic and nuclear (Poly(A)-binding protein) (probable)	1,07	1,01	2,53
gene30723-v1.0-hybrid	hypothetical protein	4,72	4,89	8,09
gene30728-v1.0-hybrid	Equilibrative nucleoside transporter 4 (probable)	0,18	0,34	0,70
gene30738-v1.0-hybrid	Nitric oxide synthase-interacting protein homolog (similar to)	106,89	104,86	91,29
gene30742-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1503365,1503384] Hybrid signal transduction histidine kinase J (probable)	1,72	1,40	4,39
gene30820-v1.0-hybrid	Histidine-rich protein (probable)	12,43	13,46	25,96
gene30824-v1.0-hybrid	Probable protein phosphatase 2C 27 (OsPP2C27) (similar to)	2,75	2,30	4,79
gene30842-v1.0-hybrid	Chaperone protein dnaK (probable)	0,55	0,76	1,04
gene30849-v1.0-hybrid	hypothetical protein	85,36	80,46	62,07
gene30900-v1.0-hybrid	PXMP2/4 family protein 4 (probable)	5,98	5,81	4,66
gene30953-v1.0-hybrid	Two-component response regulator ARR18 (similar to)	1,14	1,15	1,89
gene30998-v1.0-hybrid	Zinc finger CCCH domain-containing protein 39 (AtC3H39) (probable)	6,95	6,03	5,02
gene31036-v1.0-hybrid	Heme oxygenase 1 (HO-1) (probable)	49,75	46,29	37,99
gene31039-v1.0-hybrid	Xenotropic and polytropic retrovirus receptor 1 (X-receptor) (probable)	20,09	14,05	11,63
gene31042-v1.0-hybrid	Phospholipase D alpha 1 (PLD alpha 1) (putative)	3,97	3,46	6,11
gene31048-v1.0-hybrid	Polygalacturonase (PG), Precursor (probable)	25,40	28,02	13,57
gene31070-v1.0-hybrid	Putative ankyrin repeat protein RF_0381	0,30	0,33	0,51
gene31095-v1.0-hybrid	Beta-1,4-mannosyl-glycoprotein 4-beta-N-acetylglucosaminyltransferase (N-acetylglucosaminyltransferase III) (probable)	28,86	26,03	23,23

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene31112-v1.0-hybrid	36.4 kDa proline-rich protein (similar to)	13,93	15,88	6,76
gene31119-v1.0-hybrid	Exostosin-2 (HS-POL) (probable)	0,78	0,77	0,23
gene31217-v1.0-hybrid	KRR1 small subunit processome component homolog (probable)	0,16	0,21	0,26
gene31251-v1.0-hybrid	Serine-rich adhesin for platelets, Precursor (probable)	0,23	0,27	0,34
gene31254-v1.0-hybrid	DNA-binding protein HEXBP (probable)	22,30	22,70	19,99
gene31331-v1.0-hybrid	Probable disease resistance RPP8-like protein 2	0,18	0,25	0,56
gene31333-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [353341,356665] Disease resistance protein RPM1 (probable)	0,02	0,03	0,10
gene31374-v1.0-hybrid	F-box/LRR-repeat protein 13 (probable)	0,09	0,15	0,52
gene31461-v1.0-hybrid	Smr domain-containing protein YPL199C (probable)	0,98	0,78	1,43
gene31558-v1.0-hybrid	Interleukin-7 receptor subunit alpha (IL-7R-alpha), Precursor (probable)	3,55	2,47	8,27
gene31614-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [943826,943845] Cytochrome P450 750A1 (probable)	0,01	0,05	0,08
gene31664-v1.0-hybrid	Protein split ends (probable)	1,15	1,06	0,73
gene31690-v1.0-hybrid	Probable GMP synthase [glutamine-hydrolyzing]	0,25	0,14	0,33
gene31743-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1346231,1346479] Sulfate transporter 2.1 (similar to)	2,60	2,63	5,05
gene31811-v1.0-hybrid	Putative BTB/POZ domain-containing protein L35 (probable)	4,08	3,72	2,97
gene31840-v1.0-hybrid	2-C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase, chloroplastic (MECDP-synthase), Precursor (similar to)	18,33	18,17	14,39
gene31868-v1.0-hybrid	hypothetical protein	69,05	67,75	100,76
gene31871-v1.0-hybrid	Transmembrane protein 106A (probable)	2,44	2,39	5,80
gene31974-v1.0-hybrid	Cation channel sperm-associated protein 1 (CatSper1) (probable)	36,57	37,98	23,77
gene31976-v1.0-hybrid	Fimbrial protein, Precursor (probable)	0,90	0,67	0,36
gene31981-v1.0-hybrid	Putative leucine-rich repeat-containing protein DDB_G0290503 (probable)	0,00	0,00	0,11
gene32054-v1.0-hybrid	Septin ring organizing protein mid2 (probable)	3,64	3,59	2,03
gene32108-v1.0-hybrid	PDZ domain-containing protein 8 (probable)	595,18	510,60	429,72
gene32233-v1.0-hybrid	Serine/arginine repetitive matrix protein 2 (probable)	0,40	0,49	0,13
gene32242-v1.0-hybrid	Transcription factor TGA2 (AHBP-1b) (probable)	3,70	3,96	2,05
gene32248-v1.0-hybrid	Monocopper oxidase-like protein SKU5, Precursor (putative)	1,79	1,94	2,96
gene32263-v1.0-hybrid	Trigger factor (TF) (probable)	2,63	2,34	3,92
gene32307-v1.0-hybrid	Putative DNA-binding protein ESCAROLA (probable)	1,18	1,27	1,53
gene32350-v1.0-hybrid	Histone deacetylase complex subunit SAP18 (similar to)	3,93	3,54	2,75
gene32358-v1.0-hybrid	Phospholipase D beta 1 (AtPLDbeta1) (similar to)	0,09	0,18	0,25

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene27302-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [828645,828664] F-box/kelch-repeat protein At3g06240 (probable)	0,03	0,05	0,07
gene27312-v1.0-hybrid	Craniofacial development protein 1 (probable)	1,20	1,35	0,80
gene27363-v1.0-hybrid	Leucine-rich repeat-containing protein 26, Precursor (probable)	0,61	1,08	1,14
gene27367-v1.0-hybrid	Ribokinase (probable)	4,40	3,38	3,36
gene27407-v1.0-hybrid	Transmembrane protein 150B, Precursor (probable)	0,00	0,02	0,13
gene27519-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,78	0,72	1,38
gene27520-v1.0-hybrid	Probable serine/threonine-protein kinase At1g18390, Precursor (similar to)	4,03	4,21	4,82
gene27539-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1207480,1207499] NAC domain-containing protein 78 (ANAC078) (similar to)	26,18	27,12	34,70
gene27543-v1.0-hybrid	Protoheme IX farnesyltransferase, mitochondrial, Precursor (probable)	14,29	15,24	16,96
gene27579-v1.0-hybrid	Carboxypeptidase D, Precursor (probable)	0,72	0,69	1,08
gene27591-v1.0-hybrid	Peroxidase 12 (Atperox P12), Precursor (similar to)	30,65	29,36	37,24
gene27599-v1.0-hybrid	Phytosulfokine receptor 2 (AtPSKR2), Precursor (probable)	23,16	20,40	40,56
gene27616-v1.0-hybrid	60S ribosomal protein L6, mitochondrial (putative)	116,72	137,77	98,51
gene27658-v1.0-hybrid	Putative endoglucanase type K, Precursor (probable)	0,02	0,03	0,07
gene27684-v1.0-hybrid	Branchpoint-bridging protein (probable)	0,35	0,11	0,94
gene27689-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [333381,333400] Probable serine/threonine-protein kinase DDB_G0282963	0,00	0,02	0,04
gene27744-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [618736,623677] F-box protein At3g26010 (probable)	0,01	0,02	0,09
gene27791-v1.0-hybrid	Cyclin CCL1 (probable)	11,98	11,10	8,31
gene27796-v1.0-hybrid	Dimethylaniline monooxygenase [N-oxide-forming] 1 (FMO 1) (probable)	1,69	1,32	2,31
gene27846-v1.0-hybrid	Intracellular protein transport protein USO1 (Int-1) (probable)	13,52	15,71	18,41
gene27850-v1.0-hybrid	RING-H2 finger protein ATL10 (probable)	17,84	16,19	29,64
gene27933-v1.0-hybrid	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g53440, Precursor	4,25	4,03	4,86
gene27942-v1.0-hybrid	Beta-1,4-mannosyl-glycoprotein 4-beta-N-acetylglucosaminyltransferase (N-acetylglucosaminyltransferase III) (probable)	2,69	2,64	4,00
gene27971-v1.0-hybrid	E3 ubiquitin-protein ligase RGLG1 (similar to)	6,14	5,78	8,80
gene27991-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1789153,1789225] Potassium-transporting ATPase A chain (probable)	0,02	0,06	0,25
gene28008-v1.0-hybrid	Cytosine homolog (putative)	0,09	0,07	0,32
gene28011-v1.0-hybrid	hypothetical protein	12,02	13,83	21,77
gene28063-v1.0-hybrid	Probable inactive receptor kinase At3g56300, Precursor (putative)	5,68	5,09	7,43
gene28076-v1.0-hybrid	BES1/BZR1 homolog protein 1 (probable)	0,34	0,40	0,58

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene32378-v1.0-hybrid	Dehydration-responsive element-binding protein 1B (Protein DREB1B) (probable)	0,30	0,45	0,15
gene32402-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 87A3 (similar to)	0,02	0,01	0,04
gene32413-v1.0-hybrid	1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase (PLC) (similar to)	209,71	226,98	153,92
gene32452-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1273700,1274313] Putative copper-transporting ATPase 3 (similar to)	0,22	0,25	0,31
gene32459-v1.0-hybrid	Putative F-box protein At4g22660 (probable)	0,19	0,34	0,72
gene32478-v1.0-hybrid	Glutamate--cysteine ligase, chloroplastic (GCS), Precursor (putative)	5,56	5,06	7,23
gene32515-v1.0-hybrid	BTB/POZ domain-containing protein KCTD9 (probable)	5,94	6,56	10,69
gene32550-v1.0-hybrid	Micronuclear linker histone-gamma (probable)	15,31	16,89	19,73
gene32632-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (probable)	0,15	0,08	0,05
gene32651-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase HT1 (probable)	0,22	0,19	0,36
gene32679-v1.0-hybrid	hypothetical protein	9,61	9,12	12,17
gene33872-v1.0-hybrid	Putative F-box/kelch-repeat protein At4g19330 (probable)	14,68	13,08	9,23
gene33918-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [273405,273424] Ribosome-binding protein 1 (mRRp) (probable)	0,00	0,01	0,08
gene33955-v1.0-hybrid	Endonuclease (probable)	0,13	0,12	0,88
gene34011-v1.0-hybrid	BAHD acyltransferase At5g47980 (probable)	92,86	84,13	142,90
gene34105-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At3g21470 (probable)	0,29	0,16	0,00
gene34170-v1.0-hybrid	Disease resistance protein At4g27190 (probable)	0,65	0,46	0,93
gene34223-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g59720, mitochondrial, Precursor (probable)	0,11	0,19	0,19
gene34224-v1.0-hybrid	Chlorophyll a-b binding protein, chloroplastic, Precursor (similar to)	0,14	0,09	0,28
gene34457-v1.0-hybrid	Heat shock cognate 70 kDa protein (similar to)	1,00	1,03	1,38
gene34480-v1.0-hybrid	Transcription factor IIIB 70 kDa subunit (TFIIIB) (probable)	9,33	9,09	24,70
gene34590-v1.0-hybrid	Myosin-1 (probable)	1,01	0,85	0,41
gene34683-v1.0-hybrid	Autophagy-related protein 31 (probable)	0,06	0,06	0,12
gene34737-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1186975,1186994] hypothetical protein	0,00	0,00	0,02
gene34781-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [61829,61848] Mitochondrial outer membrane protein IML2 (probable)	0,00	0,00	0,17
gene34835-v1.0-hybrid	STAM-binding protein-like (probable)	0,44	0,41	0,27
gene34868-v1.0-hybrid	Inactive levansucrase, Precursor (probable)	0,00	0,13	0,13
gene34958-v1.0-hybrid	Replication protein A 70 kDa DNA-binding subunit (RP-A p70) (probable)	0,35	0,19	0,67
gene34977-v1.0-hybrid	partial gene TMV resistance protein N (probable)	0,14	0,18	0,80
gene35021-v1.0-hybrid	Flavanone 7-O-glucoside 2"-O-beta-L-rhamnosyltransferase (probable)	1,40	1,37	2,91

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene09329-v1.0-hybrid	N-acetyltransferase 11 (probable)	0,80	0,52	0,67
gene09523-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase AtPK19 (similar to)	32,43	26,23	29,97
gene09733-v1.0-hybrid	Auxin response factor 18 (similar to)	1,63	1,12	1,52
gene09777-v1.0-hybrid	50S ribosomal protein L18 (probable)	1,98	1,31	1,51
gene10378-v1.0-hybrid	Probable glutathione S-transferase (similar to)	0,99	0,43	0,53
gene10527-v1.0-hybrid	Expansin-like B1, Precursor (similar to)	0,11	0,05	0,09
gene10566-v1.0-hybrid	Putative indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3.9 (AtGH3-9)	0,31	0,99	0,59
gene10650-v1.0-hybrid	XK-related protein 5 (probable)	3,13	0,86	1,84
gene11505-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [430103,432175] Kinesin-like protein KIF22 (probable)	1,00	0,79	0,88
gene11731-v1.0-hybrid	Gibberellin 3-beta-dioxygenase 3 (AtGA3ox3) (probable)	3,19	1,68	1,94
gene11983-v1.0-hybrid	Long-chain-alcohol O-fatty-acyltransferase (probable)	1,19	0,58	0,88
gene12051-v1.0-hybrid	Purine permease 1 (AtPUP1) (similar to)	0,52	0,33	0,31
gene12312-v1.0-hybrid	Auxin efflux carrier component 2 (AtPIN2) (putative)	0,19	0,42	0,23
gene12409-v1.0-hybrid	Fibrocystin-L (PKHD1-like protein 1), Precursor (probable)	75,22	65,89	68,18
gene12455-v1.0-hybrid	30S ribosomal protein 1, chloroplastic (PSRP-1), Precursor (putative)	9,46	8,32	8,89
gene12483-v1.0-hybrid	Auxin-binding protein ABP19a, Precursor (putative)	0,00	0,18	0,12
gene12684-v1.0-hybrid	Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase (probable)	7,08	10,74	7,20
gene12929-v1.0-hybrid	Auxin-induced protein 15A (similar to)	0,43	0,72	0,61
gene12975-v1.0-hybrid	Protein TIFY 3B (probable)	34,99	27,79	31,57
gene14132-v1.0-hybrid	Keratin, type I cytoskeletal 18 (CK-18) (probable)	15,93	10,17	13,91
gene14463-v1.0-hybrid	RecQ-mediated genome instability protein 2 (probable)	1,87	0,55	0,78
gene14946-v1.0-hybrid	Anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase (probable)	7,26	9,15	8,51
gene15391-v1.0-hybrid	Anthocyanin regulatory C1 protein (similar to)	0,00	0,15	0,11
gene15690-v1.0-hybrid	hypothetical protein	125,40	107,67	116,68
gene15799-v1.0-hybrid	Ras-related protein Rab11D	14,37	10,12	12,12
gene15806-v1.0-hybrid	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At3g47570, Precursor	0,18	0,42	0,32
gene15815-v1.0-hybrid	Cornifin-A (SPR1A) (probable)	0,11	0,28	0,26
gene15858-v1.0-hybrid	hypothetical protein	2,58	0,90	1,67
gene16159-v1.0-hybrid	Protein PNS1 (probable)	0,42	1,69	0,94
gene16329-v1.0-hybrid	Xyloglucan galactosyltransferase KATAMARI1 (probable)	11,88	16,48	14,97
gene17091-v1.0-hybrid	hypothetical protein	56,30	32,39	41,46
gene17963-v1.0-hybrid	AN1-type zinc finger protein (probable)	1,42	0,82	1,12
gene18065-v1.0-hybrid	Serine/arginine repetitive matrix protein 2 (Ser/Arg-related nuclear matrix protein) (probable)	4,82	6,34	5,37

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene18087-v1.0-hybrid	Putative mediator of RNA polymerase II transcription subunit 7 (probable)	1,30	1,79	2,24
gene18328-v1.0-hybrid	Ski oncogene (similar to)	16,07	19,87	18,70
gene18413-v1.0-hybrid	Metallothionein-like protein type 2 MET1 (similar to)	38,94	74,14	59,05
gene18503-v1.0-hybrid	SKP1-like protein 1A (SKP1-like 1) (probable)	360,53	450,83	477,00
gene18605-v1.0-hybrid	Caffeic acid 3-O-methyltransferase (CAOMT) (probable)	7,58	4,75	5,87
gene19187-v1.0-hybrid	Golgi reassembly-stacking protein 1 (GRASP65) (probable)	7,28	5,99	6,28
gene19647-v1.0-hybrid	Trans-aconitate 3-methyltransferase (probable)	34,95	29,16	30,67
gene19961-v1.0-hybrid	DNA polymerase eta (probable)	0,23	0,14	0,14
gene19972-v1.0-hybrid	Zinc transporter 1, Precursor (similar to)	0,43	0,31	0,25
gene20164-v1.0-hybrid	Exodeoxyribonuclease 7 large subunit (Exonuclease VII large subunit) (probable)	0,35	0,00	0,06
gene20470-v1.0-hybrid	Probable pyridoxal biosynthesis protein PDX1.2 (AtPDX1.2) (putative)	60,86	76,79	63,86
gene21072-v1.0-hybrid	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 8 ((1->3)-beta-glucanase 8), Precursor (putative)	18,07	13,50	13,61
gene21138-v1.0-hybrid	Violaxanthin de-epoxidase, chloroplastic, Precursor (probable)	3,01	3,88	3,40
gene21193-v1.0-hybrid	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC4 (RNA polymerase III subunit C4) (probable)	1,24	0,88	0,81
gene21218-v1.0-hybrid	23.6 kDa heat shock protein, mitochondrial (AtHsp23.6), Precursor (probable)	9,16	14,80	10,50
gene21269-v1.0-hybrid	Lysine-specific demethylase 2B (probable)	2,65	1,60	2,01
gene21349-v1.0-hybrid	FYVE, RhoGEF and PH domain-containing protein 1 (Rho/Rac GEF) (probable)	104,23	69,97	77,07
gene21415-v1.0-hybrid	Polyadenylate-binding protein 2 (Poly(A)-binding protein 2) (similar to)	17,86	13,19	15,81
gene21418-v1.0-hybrid	Glutamate dehydrogenase 2 (GDH 2) (putative)	10,15	15,42	12,24
gene21420-v1.0-hybrid	Polygalacturonase (PG), Precursor (similar to)	0,42	0,33	0,38
gene21512-v1.0-hybrid	Regulatory protein E2 (probable)	1,71	1,21	1,28
gene21697-v1.0-hybrid	Endochitinase PR4, Precursor (similar to)	7,67	12,10	9,63
gene21892-v1.0-hybrid	DNA-directed RNA polymerases I, II, and III subunit RPABC1 (RNA polymerases I, II, and III subunit ABC1) (probable)	11,03	8,68	10,14
gene22398-v1.0-hybrid	Biotin synthase (similar to)	7,22	8,60	8,01
gene22488-v1.0-hybrid	Pirin-like protein (putative)	15,53	12,09	13,99
gene23028-v1.0-hybrid	Glycyl-tRNA synthetase 1, mitochondrial (GlyRS 1), Precursor (similar to)	4,97	7,13	7,25
gene23620-v1.0-hybrid	RING-H2 finger protein ATL4E (probable)	2,16	1,55	1,61
gene24029-v1.0-hybrid	UPF0673 membrane protein C1F5.03c (probable)	4,89	3,84	3,62
gene24371-v1.0-hybrid	Pyridoxine kinase (probable)	0,36	0,00	0,09
gene24889-v1.0-hybrid	F-box/kelch-repeat protein At5g48980 (probable)	33,09	20,56	26,04
gene25160-v1.0-hybrid	DNA polymerase I, thermostable (probable)	14,87	13,10	13,52

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene25243-v1.0-hybrid	mTERF domain-containing protein 1, mitochondrial, Precursor (probable)	1,05	1,61	1,50
gene25758-v1.0-hybrid	Dehydration-responsive element-binding protein 3 (similar to)	2,11	1,09	1,75
gene26308-v1.0-hybrid	Probable E3 ubiquitin-protein ligase HERC1	1,00	1,30	1,25
gene26435-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g09900 (putative)	2,17	1,68	1,70
gene26988-v1.0-hybrid	Phospholipase A2-like protein Y52B11A.8, Precursor (probable)	54,43	67,19	57,62
gene26994-v1.0-hybrid	ADP/ATP carrier protein 1, mitochondrial (ANT 1), Precursor (similar to)	645,20	736,71	702,66
gene27024-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g48730, chloroplastic, Precursor (similar to)	2,18	2,77	2,43
gene27522-v1.0-hybrid	Putative laccase-9, Precursor (similar to)	0,14	0,30	0,29
gene27826-v1.0-hybrid	DNA repair helicase UVH6 (AtUVH6) (putative)	0,97	1,75	1,22
gene28079-v1.0-hybrid	Pair-rule protein odd-paired (probable)	2,52	0,84	1,42
gene28461-v1.0-hybrid	Nitrate transporter (probable)	12,61	10,11	10,64
gene28609-v1.0-hybrid	50S ribosomal protein L9 (probable)	1,38	0,66	1,08
gene29123-v1.0-hybrid	Coiled-coil domain-containing protein 82 (probable)	0,21	1,79	0,54
gene29457-v1.0-hybrid	Prolyl-tRNA synthetase (ProRS) (probable)	2,83	1,36	1,92
gene29849-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,08	1,21	1,37
gene30031-v1.0-hybrid	partial gene Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g56140, Precursor (similar to)	0,29	0,47	0,50
gene30302-v1.0-hybrid	Aspartic proteinase nepenthesin-1, Precursor (probable)	3,02	0,96	2,01
gene30439-v1.0-hybrid	NAC domain-containing protein 18 (ANAC018) (similar to)	24,78	30,03	29,12
gene30811-v1.0-hybrid	30S ribosomal protein S5 (probable)	0,36	0,12	0,19
gene31157-v1.0-hybrid	Transcription factor SOX-3 (probable)	102,42	109,53	104,84
gene31759-v1.0-hybrid	L-lactate dehydrogenase A (LDH-A) (putative)	47,62	64,73	52,69
gene31869-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1971770,1971789] Trichohyalin (probable)	0,24	0,77	1,19
gene31896-v1.0-hybrid	Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A (Glu-ADT subunit A) (probable)	4,52	2,82	2,59
gene34044-v1.0-hybrid	Disease resistance response protein 206 (probable)	2,74	1,06	1,62
gene35035-v1.0-hybrid	hypothetical protein	5,44	3,47	4,08
gene35123-v1.0-hybrid	Zinc finger protein 423 (probable)	0,32	0,71	0,53
gene09753-v1.0-hybrid	Phenylalanine ammonia-lyase 1 (putative)	168,32	248,56	104,70
gene32084-v1.0-hybrid	Ethylene-responsive transcription factor ERF061 (probable)	182,77	239,05	177,37
gene00124-v1.0-hybrid	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 3 (probable)	0,42	0,22	0,38
gene00131-v1.0-hybrid	Probable receptor-like protein kinase At5g39020, Precursor	0,58	0,11	1,39
gene00188-v1.0-hybrid	Isoaspartyl peptidase/L-asparaginase 2 subunit beta, Precursor (putative)	153,83	315,05	131,01

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene00202-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [33234,33253] Potassium transporter 5 (AtPOT5) (putative)	0,24	0,06	0,18
gene00368-v1.0-hybrid	High affinity cationic amino acid transporter 1 (CAT-1) (probable)	1,01	1,50	0,71
gene00395-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [379170,379189] hypothetical protein	0,43	0,30	0,56
gene00398-v1.0-hybrid	Zinc finger CCCH domain-containing protein 11 (OsC3H11) (similar to)	0,55	0,14	0,54
gene00405-v1.0-hybrid	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 12 (AtUBP12) (probable)	47,55	33,98	42,38
gene00422-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g19280 (probable)	0,40	0,12	0,37
gene00457-v1.0-hybrid	Probable histone acetyltransferase HAC-like 1	0,00	0,03	0,02
gene00468-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase ATM (AtATM) (probable)	0,02	0,00	0,01
gene00542-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [7095,8188] L-ascorbate oxidase (Ascorbase), Precursor (similar to)	0,02	0,00	0,01
gene00553-v1.0-hybrid	Putative ribonuclease H protein At1g65750 (probable)	0,24	0,06	0,11
gene00639-v1.0-hybrid	Carbonic anhydrase, chloroplastic, Precursor (similar to)	21,68	16,10	23,20
gene00669-v1.0-hybrid	Mucin-16 (MUC-16) (probable)	0,18	0,34	0,27
gene00807-v1.0-hybrid	hypothetical protein	3,78	3,24	3,21
gene00829-v1.0-hybrid	Probable S-acyltransferase At3g18620	12,98	10,28	14,36
gene00892-v1.0-hybrid	Protein AIR2 (probable)	0,02	0,12	0,17
gene00893-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g13770, chloroplastic, Precursor (putative)	0,21	0,59	0,29
gene01018-v1.0-hybrid	Serpin-Z1 (probable)	0,17	0,00	0,11
gene01064-v1.0-hybrid	Flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase (FLS) (probable)	3,00	0,99	3,03
gene01171-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [87185,87204] Fibulin-5 (FIBL-5), Precursor (probable)	0,14	0,06	0,14
gene01175-v1.0-hybrid	Reticulon-like protein B4 (AtRTNLB4) (probable)	0,11	0,00	0,03
gene01185-v1.0-hybrid	RNA polymerase II transcription factor SIII subunit A3 (EloA3) (probable)	0,42	0,20	0,16
gene01236-v1.0-hybrid	Pyrophosphate--fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase subunit beta (PFP) (putative)	1,14	0,77	1,32
gene01244-v1.0-hybrid	Ankyrin repeat domain-containing protein 1 (probable)	0,05	0,01	0,05
gene01248-v1.0-hybrid	GTP-binding protein lepA (probable)	0,00	0,29	0,14
gene01273-v1.0-hybrid	GPI ethanolamine phosphate transferase 1 (probable)	0,03	1,69	0,09
gene01343-v1.0-hybrid	ABC transporter I family member 11, chloroplastic (ABC transporter ABCI.11), Precursor (similar to)	1,76	1,08	1,69
gene01371-v1.0-hybrid	UPF0497 membrane protein 7 (probable)	4,33	3,71	4,68
gene01404-v1.0-hybrid	UPF0496 protein At3g19330 (probable)	1,25	1,60	1,70
gene01431-v1.0-hybrid	Ras guanine nucleotide exchange factor S	2,16	1,28	1,97

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene01446-v1.0-hybrid	Ubiquitin-conjugating enzyme E2-17 kDa (putative)	198,05	155,92	194,07
gene01496-v1.0-hybrid	Calcineurin B-like protein 3 (similar to)	6,43	4,89	6,93
gene01542-v1.0-hybrid	Chaperone protein dnaJ (probable)	0,68	0,35	0,65
gene01572-v1.0-hybrid	Kinesin-like protein KIFC3 (probable)	0,16	0,07	0,16
gene01682-v1.0-hybrid	Exosome complex exonuclease RRP41 (similar to)	0,28	0,13	0,24
gene01693-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [730147,730587] Auxin-induced protein X10A (similar to)	0,26	0,14	0,18
gene01709-v1.0-hybrid	Putative transmembrane protein ORF27 (probable)	0,07	0,00	0,02
gene01886-v1.0-hybrid	DNA ligase (probable)	0,10	0,02	0,06
gene02020-v1.0-hybrid	UPF0324 membrane protein Cgl0015/cg0018 (probable)	2,98	2,31	3,07
gene02062-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [330772,330871] 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase homolog 1 (probable)	0,87	1,73	0,64
gene02073-v1.0-hybrid	Sigma factor sigB regulation protein rsbQ (probable)	14,86	24,60	12,72
gene02103-v1.0-hybrid	Phosphatase and actin regulator 4 (probable)	0,61	1,23	0,81
gene02110-v1.0-hybrid	Ras-related protein RHN1 (putative)	14,83	11,41	14,41
gene02154-v1.0-hybrid	Serine carboxypeptidase 3, Precursor (similar to)	0,16	0,03	0,13
gene02357-v1.0-hybrid	Alternative oxidase, mitochondrial, Precursor (similar to)	10,30	7,24	11,60
gene02363-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [122584,122988] hypothetical protein	0,04	0,00	0,05
gene02403-v1.0-hybrid	Transmembrane and coiled-coil domain-containing protein 5B (probable)	0,31	0,50	0,35
gene02436-v1.0-hybrid	Kinesin-like protein KIF1C (probable)	0,15	0,02	0,08
gene02447-v1.0-hybrid	Mitochondrial GTPase 1, Precursor (probable)	0,23	0,10	0,15
gene02484-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g11900 (probable)	3,29	5,16	3,95
gene02559-v1.0-hybrid	Adenine phosphoribosyltransferase 1 (APRT 1) (similar to)	34,91	30,74	35,58
gene02606-v1.0-hybrid	UPF0481 protein At3g47200 (probable)	2,87	2,34	3,05
gene02664-v1.0-hybrid	hypothetical protein	14,63	36,58	12,85
gene02768-v1.0-hybrid	Putative AC transposase (probable)	0,00	0,06	0,12
gene03053-v1.0-hybrid	Protein RUPTURED POLLEN GRAIN 1 (probable)	3,14	2,40	3,04
gene03185-v1.0-hybrid	Ubiquitin (similar to)	95,94	87,66	95,31
gene03226-v1.0-hybrid	BEACH domain-containing protein lvsF (probable)	0,00	0,85	0,66
gene03242-v1.0-hybrid	Zinc finger MYM-type protein 5 (probable)	0,06	0,13	0,18
gene03278-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [185822,187651] Beta-glucosidase 6 (Os3bglu6), Precursor (similar to)	0,15	0,07	0,19
gene03420-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1813363,1813382] Cell differentiation protein RCD1 homolog (Rcd-1) (similar to)	0,41	0,29	0,48

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene03436-v1.0-hybrid	Filamin A-interacting protein 1-like (probable) overlaps bad segment [2052010,2052133]	1,67	0,79	2,21
gene03470-v1.0-hybrid	Putative AC9 transposase (probable)	0,01	0,00	0,02
gene03485-v1.0-hybrid	Jasmonate O-methyltransferase (probable)	0,04	0,15	0,08
gene03563-v1.0-hybrid	Erythronate-4-phosphate dehydrogenase (probable)	0,11	0,06	0,11
gene03602-v1.0-hybrid	Menaquinone biosynthesis methyltransferase ubiE (probable)	0,11	0,29	0,23
gene03638-v1.0-hybrid	Uncharacterized protein sll0194 (similar to)	30,47	27,65	29,57
gene03699-v1.0-hybrid	Probable inactive receptor kinase At3g08680, Precursor	2,32	1,31	2,21
gene03779-v1.0-hybrid	Aspartic proteinase nepenthesin-1, Precursor (probable)	0,97	1,49	1,15
gene03818-v1.0-hybrid	60S ribosomal protein L12-2 (similar to)	0,14	0,00	0,09
gene03864-v1.0-hybrid	tRNA-dihydrouridine synthase B (probable)	2,43	1,66	2,40
gene03962-v1.0-hybrid	Putative outward-rectifying potassium channel 4 (AtKCO4) (probable)	0,78	0,45	0,98
gene04178-v1.0-hybrid	Potassium channel AKT1 (OsAKT1) (probable)	0,74	0,45	0,63
gene04238-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 85A (similar to)	0,77	0,57	0,65
gene04311-v1.0-hybrid	hypothetical protein	1,60	1,08	1,38
gene04392-v1.0-hybrid	Probable serine/threonine-protein kinase At1g54610 (similar to)	0,91	0,60	0,81
gene04463-v1.0-hybrid	Aquaporin NIP2-1 (similar to)	0,41	0,10	0,36
gene04487-v1.0-hybrid	Uridylate kinase (UK) (probable)	0,39	0,10	0,26
gene04768-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [26004,28080] hypothetical protein	0,40	0,24	0,35
gene04781-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [632081,632100] UPF0061 protein Sala_1564 (probable)	0,02	0,38	0,33
gene04904-v1.0-hybrid	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase EFR (EF-Tu receptor), Precursor (probable)	2,21	1,74	2,39
gene04932-v1.0-hybrid	Chorismate synthase (probable)	0,39	0,08	0,23
gene04957-v1.0-hybrid	Ral guanine nucleotide dissociation stimulator-like 2 (similar to)	0,37	0,16	0,34
gene04985-v1.0-hybrid	tRNA modification GTPase mnmE (probable)	0,63	0,00	0,18
gene05212-v1.0-hybrid	Dynein heavy chain, cytoplasmic (DYHC) (probable)	0,04	0,02	0,02
gene05464-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [3572827,3572846] Transcription elongation factor SPT6 (probable)	2,78	1,69	2,25
gene05615-v1.0-hybrid	Probable NADP-dependent oxidoreductase P2	0,04	0,00	0,05
gene05698-v1.0-hybrid	Cell wall integrity protein scw1 (probable)	3,94	4,30	4,09
gene05716-v1.0-hybrid	Actin-related protein 2/3 complex subunit 1 (probable)	0,24	0,09	0,34
gene05766-v1.0-hybrid	Meiotically up-regulated gene 152 protein (probable)	0,00	0,11	0,02
gene05856-v1.0-hybrid	Nitric oxide synthase, brain (N-NOS) (probable)	0,40	0,15	0,27
gene05905-v1.0-hybrid	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 3 (similar to)	1,07	0,59	0,96
gene06042-v1.0-hybrid	DNA-directed RNA polymerase subunit beta (RNAP subunit beta) (probable)	24,11	18,62	26,01

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene06057-v1.0-hybrid	Endo-1,3, Precursor (probable)	224,03	175,64	226,92
gene06408-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,75	0,09	0,42
gene06717-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [863411,863430] Cullin-1 (probable)	0,27	0,15	0,23
gene06721-v1.0-hybrid	Probable serine/threonine-protein kinase At1g54610 (similar to)	3,69	2,55	3,31
gene06895-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1783632,1783651] Probable histone-arginine methyltransferase CARM1A (putative)	4,21	3,35	4,97
gene07333-v1.0-hybrid	hypothetical protein	3,11	2,36	2,65
gene07421-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2699665,2699684] Myb protein (similar to)	0,04	0,02	0,05
gene07434-v1.0-hybrid	UPF0481 protein At3g47200 (probable)	0,08	0,00	0,05
gene07438-v1.0-hybrid	Serine/arginine repetitive matrix protein 1 (probable)	0,12	0,37	0,24
gene07502-v1.0-hybrid	Putative DNA helicase ino80 (probable)	1,64	0,66	1,52
gene07526-v1.0-hybrid	Branchpoint-bridging protein (probable)	0,24	0,00	0,12
gene07600-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [445268,445287] Aspartyl/glutamyl-tRNA(Asn/Gln) amidotransferase subunit B (Asp/Glu-ADT subunit B) (probable)	0,54	0,27	0,95
gene07674-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [271244,271263] Homoserine dehydrogenase (probable)	0,73	0,60	0,81
gene07714-v1.0-hybrid	tRNA modification GTPase mnmE (probable)	0,25	0,04	0,11
gene07760-v1.0-hybrid	Chloroplast envelope membrane 70 kDa heat shock-related protein (similar to)	0,04	0,61	0,16
gene07774-v1.0-hybrid	Putative phosphatidylcholine:ceramide cholinephosphotransferase 3 (probable)	0,30	0,08	0,25
gene07892-v1.0-hybrid	ABC transporter G family member 31 (ABC transporter ABCG.31) (putative)	0,07	0,02	0,06
gene08060-v1.0-hybrid	Formin-like protein 7 (similar to)	0,99	0,54	1,00
gene08224-v1.0-hybrid	Nucleotide-binding protein-like (similar to)	2,53	1,58	2,16
gene08269-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase 38-like (probable)	0,14	0,07	0,08
gene08276-v1.0-hybrid	TBC1 domain family member 15 (probable)	2,65	2,32	3,14
gene08298-v1.0-hybrid	60S ribosomal protein L19-1 (probable)	0,59	0,43	0,95
gene08327-v1.0-hybrid	Cysteine-rich repeat secretory protein 3, Precursor (probable)	0,60	0,19	0,60
gene08344-v1.0-hybrid	SKP1-like protein 1A (SKP1-like 1) (putative)	0,25	0,00	0,08
gene08401-v1.0-hybrid	CD82 antigen (probable)	15,21	12,32	15,20
gene08522-v1.0-hybrid	Disks large homolog 5 (probable)	0,07	0,35	0,07
gene08528-v1.0-hybrid	Protein transport protein SEC23 (probable)	0,30	0,00	0,20
gene08614-v1.0-hybrid	Coiled-coil alpha-helical rod protein 1 (probable)	0,75	0,33	0,81
gene08650-v1.0-hybrid	F-box protein SKIP31 (putative)	8,95	7,24	9,96
gene08665-v1.0-hybrid	F-box only protein 21 (probable)	1,92	1,20	2,01
gene08874-v1.0-hybrid	RNA-binding protein 27 (probable)	0,05	0,01	0,06
gene08982-v1.0-hybrid	ABC transporter F family member 4 (ABC transporter ABCF.4) (putative)	0,29	0,15	0,39
gene09045-v1.0-hybrid	Dipeptidyl peptidase family member 6	0,03	0,00	0,04

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene09103-v1.0-hybrid	RUN and FYVE domain-containing protein 4 (probable)	2,18	1,26	1,99
gene09152-v1.0-hybrid	Rop guanine nucleotide exchange factor 1 (RopGEF1) (probable)	0,60	3,60	0,79
gene09188-v1.0-hybrid	Peroxide stress-activated histidine kinase mak2 (probable)	0,49	0,73	0,54
gene09213-v1.0-hybrid	SEC12-like protein 1 (PHF-1) (similar to)	2,14	1,45	2,68
gene09289-v1.0-hybrid	SHR, (SHORT, ROOT)	0,74	0,00	0,36
gene09297-v1.0-hybrid	Homeobox-leucine zipper protein HDG11 (similar to)	0,00	0,04	0,01
gene09303-v1.0-hybrid	Middle T antigen (MT-AG) (probable)	0,25	0,00	0,13
gene09319-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1124828,1124847] NAD(P)H-dependent 6'-deoxychalcone synthase (probable)	2,98	2,03	2,42
gene09351-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1316423,1316442] Probable polyketide synthase 3 (dipks3)	1,11	0,74	1,10
gene09387-v1.0-hybrid	hypothetical protein	10,32	8,06	9,34
gene09405-v1.0-hybrid	Protein MOTHER of FT and TF 1 (similar to)	0,08	0,02	0,13
gene09436-v1.0-hybrid	Uncharacterized PKHD-type hydroxylase At1g22950 (similar to)	3,93	2,71	3,92
gene09519-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,02	0,07	0,09
gene09529-v1.0-hybrid	5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase (Methenyl-THF synthetase) (probable)	4,30	3,44	4,64
gene09539-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,04	0,01	0,02
gene09613-v1.0-hybrid	OTU domain-containing protein DDB_G0284757 (probable)	3,45	2,59	4,05
gene09624-v1.0-hybrid	Transcription initiation factor TFIID subunit 3 (probable)	12,96	9,99	12,80
gene09782-v1.0-hybrid	Probable calcium-binding protein CML22 (putative)	11,55	8,06	11,69
gene09974-v1.0-hybrid	HMG-Y-related protein B (probable)	1,00	0,59	0,96
gene10184-v1.0-hybrid	Probable cysteine synthase, chloroplastic (CSase), Precursor (similar to)	0,29	0,36	0,28
gene10253-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [108855,109207] Endonuclease (probable)	0,02	0,00	0,02
gene10327-v1.0-hybrid	Protein D9 (probable)	1,06	0,78	1,16
gene10342-v1.0-hybrid	Probable arylformamidase (KF)	2,35	1,67	2,10
gene10351-v1.0-hybrid	Ribosomal RNA large subunit methyltransferase M (probable)	2,96	1,10	2,37
gene10363-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [501483,501502] MLO-like protein 1 (AIMlo1) (similar to)	0,13	0,07	0,11
gene10661-v1.0-hybrid	Putative casein kinase II subunit beta-4 (CK II beta-4) (similar to)	13,38	10,71	14,41
gene10720-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,02	0,08	0,06
gene10930-v1.0-hybrid	Melatonin receptor type 1C (probable)	0,03	0,23	0,14
gene10972-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1602463,1602482] Protein FAR1-RELATED SEQUENCE 5 (probable)	0,22	0,08	0,14
gene11057-v1.0-hybrid	ABC transporter G family member 17 (ABC transporter ABCG.17) (probable)	0,10	0,23	0,16

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene11070-v1.0-hybrid	GDSL esterase/lipase At5g08460, Precursor (probable)	0,02	0,12	0,17
gene11148-v1.0-hybrid	Histone acetyltransferase p300 (p300 HAT) (probable)	28,58	16,55	29,74
gene11156-v1.0-hybrid	Cation transport regulator-like protein 2 (probable)	0,35	0,22	0,43
gene11283-v1.0-hybrid	Probable RNA-dependent RNA polymerase 3 (OsRDR3)	0,03	0,16	0,04
gene11284-v1.0-hybrid	Probable RNA-dependent RNA polymerase 4 (OsRDR4)	0,02	0,28	0,08
gene11339-v1.0-hybrid	Cathepsin O, Precursor (similar to)	3,25	4,30	3,09
gene11368-v1.0-hybrid	Putative pre-mRNA-splicing factor ATP-dependent RNA helicase DHX16 (probable)	0,19	0,04	0,23
gene11423-v1.0-hybrid	CTP synthase (probable)	0,00	0,09	0,02
gene11628-v1.0-hybrid	Putative membrane protein ycf1 (probable)	0,26	0,13	0,32
gene11679-v1.0-hybrid	Putative serine/threonine-protein kinase receptor (SRK), Precursor (probable)	0,31	0,09	0,29
gene11696-v1.0-hybrid	Potassium channel AKT6 (putative)	0,05	0,01	0,03
gene11712-v1.0-hybrid	Primosomal protein N' (probable)	0,02	0,00	0,01
gene11737-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At1g28690, mitochondrial, Precursor (putative)	0,43	0,22	0,43
gene11765-v1.0-hybrid	Another transcription unit protein (probable)	0,79	0,29	0,85
gene11846-v1.0-hybrid	Bark storage protein A, Precursor (probable)	4,82	2,98	4,79
gene11920-v1.0-hybrid	Ankyrin repeat-containing protein At3g12360 (probable)	0,00	0,02	0,02
gene12067-v1.0-hybrid	GEM-like protein 1 (FH-interacting protein 1) (putative)	24,51	23,14	23,83
gene12227-v1.0-hybrid	Mitochondrial distribution and morphology protein 10 (probable)	2,74	1,62	2,41
gene12391-v1.0-hybrid	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase CYP20-3, chloroplastic (PPIase CYP20-3), Precursor (putative)	0,84	1,13	1,04
gene12554-v1.0-hybrid	Histidyl-tRNA synthetase (HisRS) (probable)	1,13	0,12	0,87
gene12699-v1.0-hybrid	RHO1 GDP-GTP exchange protein 2 (probable)	0,74	1,23	0,94
gene12836-v1.0-hybrid	Nephrocystin-3 (probable)	1,50	1,09	1,40
gene12928-v1.0-hybrid	Respiratory burst oxidase homolog protein E (AtRBOHE) (putative)	0,01	0,05	0,06
gene12974-v1.0-hybrid	Ankyrin repeat and SOCS box protein 9 (ASB-9) (probable)	3,28	2,49	3,23
gene13130-v1.0-hybrid	WD repeat-containing protein 55 homolog (probable)	1,01	0,12	1,01
gene13138-v1.0-hybrid	2'-deoxymugineic-acid 2'-dioxygenase (probable)	3,72	2,37	3,36
gene13169-v1.0-hybrid	F-box protein At5g07610 (similar to) overlaps bad segment [2418524,2418676]	0,06	0,17	0,14
gene13268-v1.0-hybrid	KTEL motif-containing protein 1, Precursor (probable)	0,15	0,07	0,08
gene13306-v1.0-hybrid	Homeobox-leucine zipper protein HDG1 (similar to)	0,08	0,05	0,09

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene13322-v1.0-hybrid	Multidrug and toxin extrusion protein 2 (mMATE-2) (probable)	0,00	0,17	0,04
gene13392-v1.0-hybrid	Putative nitric oxide synthase (similar to)	5,08	3,80	5,42
gene13440-v1.0-hybrid	Indole-3-glycerol phosphate lyase, chloroplastic, Precursor (similar to)	0,04	0,32	0,04
gene13929-v1.0-hybrid	Homeobox even-skipped homolog protein 2 (probable)	0,20	0,10	0,18
gene14121-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1881399,1881418] Transcription factor MafB (Maf-B) (probable)	0,15	0,36	0,10
gene14201-v1.0-hybrid	RING-box protein 1a (similar to)	2,60	1,15	2,59
gene14230-v1.0-hybrid	mRNA guanylyltransferase (probable)	0,05	0,00	0,11
gene14282-v1.0-hybrid	Serine/threonine protein phosphatase 7 long form homolog (probable)	0,03	0,20	0,13
gene14295-v1.0-hybrid	Peptide transporter PTR1 (probable)	2,08	3,09	2,12
gene14335-v1.0-hybrid	Pheophorbide a oxygenase, chloroplastic (Pheide a oxygenase), Precursor (probable)	1,30	1,99	1,40
gene14453-v1.0-hybrid	60S ribosomal protein L9 (probable)	0,08	0,02	0,06
gene14492-v1.0-hybrid	Mitochondrial ATPase complex subunit ATP10 (probable)	3,11	2,36	3,70
gene14518-v1.0-hybrid	Ammonium transporter 3 member 1 (OsAMT3) (putative)	0,11	0,02	0,13
gene14595-v1.0-hybrid	Protein ENL (probable)	0,00	0,17	0,05
gene14775-v1.0-hybrid	Protein unc-84 homolog A (probable)	4,48	3,14	6,42
gene14845-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2529328,2529452] UPF0724 protein C1861.05 (probable)	1,18	0,78	1,02
gene15175-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,65	0,31	0,85
gene15514-v1.0-hybrid	GATA zinc finger domain-containing protein C1393.08 (probable)	22,88	28,39	19,39
gene15518-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2136345,2136364] Probable cyclic nucleotide-gated ion channel 6 (AtCNGC6)	0,11	0,07	0,10
gene15622-v1.0-hybrid	Hepatoma-derived growth factor-related protein 2 (HRP-2) (probable)	4,05	1,89	4,15
gene15742-v1.0-hybrid	Ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic (RuBisCO activase), Precursor (probable)	4,33	3,05	5,90
gene15914-v1.0-hybrid	Sulfate permease 2 (probable)	1,16	0,64	1,22
gene15945-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase PBS1 (probable)	0,61	0,33	0,64
gene16170-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [399112,399242] Ribosome biogenesis protein NSA2 homolog (LNR42) (similar to)	0,31	0,23	0,25
gene16204-v1.0-hybrid	ABC transporter G family member 5 (ABC transporter ABCG.5) (putative)	0,08	0,00	0,16
gene16364-v1.0-hybrid	2,3-bisphosphoglycerate-dependent phosphoglycerate mutase (Phosphoglyceromutase) (similar to)	0,02	0,10	0,04
gene16642-v1.0-hybrid	Bromodomain and WD repeat-containing protein 3 (probable)	0,27	0,00	0,16
gene16805-v1.0-hybrid	Probable tyrosine-protein phosphatase At1g05000 (similar to)	7,56	6,43	7,96

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene17121-v1.0-hybrid	Lectin-domain containing receptor kinase A4.2, Precursor (probable)	4,20	2,99	3,74
gene17133-v1.0-hybrid	Alanyl-tRNA synthetase (AlaRS) (probable)	0,96	0,07	0,69
gene17189-v1.0-hybrid	Cyclin-dependent kinase B1-1 (CDKB1) (probable)	0,08	0,18	0,08
gene17335-v1.0-hybrid	Homoserine kinase (HSK) (probable)	57,29	68,08	59,36
gene17409-v1.0-hybrid	Serine/threonine-protein kinase MHK (putative)	0,24	0,14	0,25
gene17511-v1.0-hybrid	DNA ligase (probable)	1,28	0,72	1,41
gene17557-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At5g48910 (similar to)	0,21	0,39	0,19
gene17747-v1.0-hybrid	Nuclear cap-binding protein subunit 2 (AtCBP20) (probable)	4,20	3,23	4,42
gene17772-v1.0-hybrid	C-C motif chemokine 25, Precursor (similar to)	0,07	0,00	0,04
gene17874-v1.0-hybrid	Glycogenin-2 (GN-2) (probable)	0,04	0,11	0,04
gene17958-v1.0-hybrid	Endothelial transcription factor GATA-2 (probable)	0,25	0,15	0,22
gene17976-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,16	0,07	0,12
gene18031-v1.0-hybrid	Cap-associated protein CAF20 (probable)	0,11	0,02	0,04
gene18112-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,17	0,08	0,20
gene18119-v1.0-hybrid	Nuclear factor related to kappa-B-binding protein (probable)	3,03	2,22	2,92
gene18125-v1.0-hybrid	E3 ubiquitin-protein ligase Praja2 (Praja-2) (probable)	2,83	1,16	4,35
gene18209-v1.0-hybrid	Ras-related protein ARA-3 (similar to)	5,21	3,69	5,99
gene18225-v1.0-hybrid	UNC93-like protein (similar to)	12,31	10,03	12,49
gene18233-v1.0-hybrid	K(+)/H(+) antiporter 13 (AtCHX13) (probable)	2,32	3,33	2,81
gene18325-v1.0-hybrid	Probable serine/threonine-protein kinase irfC	10,56	8,86	10,34
gene18344-v1.0-hybrid	Rhodopsin, GQ-coupled (probable)	0,23	0,00	0,06
gene18372-v1.0-hybrid	Gamma-glutamyl phosphate reductase (putative)	0,01	0,03	0,02
gene18477-v1.0-hybrid	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic (similar to)	0,16	0,07	0,10
gene18512-v1.0-hybrid	Cysteine-rich receptor-like protein kinase 7 (Cysteine-rich RLK7), Precursor (probable)	0,12	0,21	0,13
gene18532-v1.0-hybrid	Zinc finger and BTB domain-containing protein 41 (probable)	0,45	0,00	0,18
gene18628-v1.0-hybrid	60S acidic ribosomal protein P1 (probable)	0,06	0,51	0,38
gene18725-v1.0-hybrid	Cytoplasmic polyadenylation element-binding protein 1-A (CPE-binding protein 1-A) (probable)	0,89	0,46	0,73
gene18793-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2089989,2090008] UPF0354 protein SH1179 (similar to)	2,71	2,25	2,76
gene18869-v1.0-hybrid	Putative nicotinamide N-methyltransferase (probable)	1,38	0,97	1,41
gene18915-v1.0-hybrid	HEAT repeat-containing protein 5A (probable)	0,13	0,03	0,08
gene18918-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [2219429,2219716] Tubulin gamma-1 chain (similar to)	2,24	1,68	1,89
gene18931-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 71A26 (probable)	0,37	0,94	0,56
gene19230-v1.0-hybrid	50S ribosomal protein L5, chloroplastic, Precursor (putative)	3,75	1,96	3,46

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene19262-v1.0-hybrid	Probable leucine-rich repeat receptor-like protein kinase At5g49770, Precursor	0,06	0,00	0,06
gene19349-v1.0-hybrid	NAD kinase 2, chloroplastic (AtNADK-2), Precursor (probable)	2,62	1,35	3,34
gene19360-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [4974348,4974367] Heat shock protein 83 (similar to)	0,08	0,24	0,09
gene19366-v1.0-hybrid	Kielin/chordin-like protein (KCP), Precursor (probable)	0,85	0,16	1,32
gene19428-v1.0-hybrid	MADS-box transcription factor 6 (similar to)	0,02	0,08	0,08
gene19496-v1.0-hybrid	Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g07550, Precursor	1,08	0,67	1,03
gene19564-v1.0-hybrid	E3 ubiquitin-protein ligase RNF19B (probable) overlaps bad segment [34922,34941]	0,26	0,05	0,13
gene19697-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 71A6 (similar to)	0,05	0,00	0,06
gene19715-v1.0-hybrid	Transcription factor MYB86 (AtMYB86) (probable)	1,03	0,65	1,04
gene19857-v1.0-hybrid	Subtilisin-like protease, Precursor (probable)	0,10	0,01	0,10
gene20087-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,16	0,09	0,11
gene20226-v1.0-hybrid	Pre-mRNA-splicing factor CWC22 (probable)	1,08	0,79	1,42
gene20296-v1.0-hybrid	N-acetyltransferase 5 homolog (putative)	3,84	2,78	4,11
gene20433-v1.0-hybrid	Ras-related protein Rab7	42,45	35,21	43,69
gene20490-v1.0-hybrid	Ser/Thr-rich protein T10 in DGCR region (probable)	0,08	0,03	0,06
gene20525-v1.0-hybrid	Histone H3.v1 (probable)	0,00	0,07	0,05
gene20623-v1.0-hybrid	Golgin subfamily A member 4 (probable)	1,39	0,93	1,09
gene20655-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (similar to)	0,68	0,15	0,45
gene20674-v1.0-hybrid	RNA-binding protein EWS (probable)	0,14	0,00	0,25
gene20683-v1.0-hybrid	Microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 3 (probable)	0,00	0,02	0,01
gene20745-v1.0-hybrid	AT3g05350/T12H1_32 (similar to)	0,96	0,10	0,67
gene20935-v1.0-hybrid	Syntaxin-31 (AtSYP31) (similar to)	9,70	7,27	9,46
gene20950-v1.0-hybrid	Receptor-like protein kinase At3g21340, Precursor (similar to)	0,86	0,44	1,15
gene20957-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,29	1,31	0,42
gene20973-v1.0-hybrid	Zinc finger MIZ domain-containing protein 2 (probable)	2,57	1,49	2,65
gene21077-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [77737,78765] Squalene monooxygenase (SE) (similar to)	0,34	0,07	0,25
gene21229-v1.0-hybrid	Structural maintenance of chromosomes protein 2-2 (AtSMC2-2) (similar to)	0,96	0,73	0,92
gene21289-v1.0-hybrid	K(+)/H(+) antiporter 13 (AtCHX13) (probable)	0,25	0,08	0,19
gene21380-v1.0-hybrid	Probable inorganic phosphate transporter 1-2 (AtPht1) (putative)	0,00	0,09	0,07
gene21465-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,20	0,40	0,24
gene21585-v1.0-hybrid	60S ribosomal protein L3 (putative)	0,36	0,17	0,49
gene21769-v1.0-hybrid	Membrin-11 (AtMEMB11) (putative)	9,48	8,25	8,81
gene21786-v1.0-hybrid	Probable E3 ubiquitin-protein ligase AR18 (similar to)	0,43	0,14	0,50
gene21896-v1.0-hybrid	Mitochondria fission 1 protein (probable)	4,91	3,70	3,98

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene21955-v1.0-hybrid	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase ((1->3)-beta-glucanase), Precursor (putative)	0,69	0,22	0,81
gene21993-v1.0-hybrid	rRNA-processing protein EFG1 (probable)	6,68	5,65	7,31
gene22145-v1.0-hybrid	NAD(P)H-dependent 6'-deoxychalcone synthase (similar to)	0,95	0,51	0,74
gene22180-v1.0-hybrid	Xylulose kinase (Xylulokinase) (probable)	1,87	0,77	1,36
gene22207-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [89042,89061] (+)-delta-cadinene synthase isozyme A (D-cadinene synthase A) (probable)	2,38	1,97	2,43
gene22209-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,47	0,09	0,47
gene22264-v1.0-hybrid	Probable global transcription activator SNF2L2 (hBRM)	0,66	0,17	0,67
gene22284-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [167458,167477] Putative F-box/kelch-repeat protein At5g24040 (probable)	0,31	0,02	0,08
gene22307-v1.0-hybrid	UPF0493 protein KIAA1632 (probable)	0,18	0,06	0,13
gene22328-v1.0-hybrid	F-box/LRR-repeat protein At3g26920 (probable)	0,03	0,00	0,01
gene22564-v1.0-hybrid	Chitinase 1 (TBC-1), Precursor (similar to)	0,12	0,00	0,04
gene22565-v1.0-hybrid	F-box/kelch-repeat protein At1g57790 (probable)	0,40	0,10	0,54
gene22698-v1.0-hybrid	Serine hydroxymethyltransferase, mitochondrial (SHMT), Precursor (putative)	1,98	1,12	2,37
gene22701-v1.0-hybrid	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic (similar to)	2,66	2,08	3,41
gene22711-v1.0-hybrid	Tryptophan synthase beta chain (similar to)	0,48	0,08	0,51
gene22712-v1.0-hybrid	Acyl-[acyl-carrier-protein] synthetase (probable)	1,61	1,04	2,80
gene22780-v1.0-hybrid	Chromatin structure-remodeling complex protein BSH (AtBSH) (putative)	0,79	0,44	0,91
gene22906-v1.0-hybrid	Peptidyl-tRNA hydrolase (PTH) (probable)	0,44	0,71	0,32
gene22999-v1.0-hybrid	Solute carrier family 25 member 44 (probable)	0,17	0,42	0,31
gene23082-v1.0-hybrid	DNA double-strand break repair rad50 ATPase (probable)	9,23	8,49	9,17
gene23149-v1.0-hybrid	Ammonium transporter 1 member 2 (AtAMT1) (probable)	0,02	0,10	0,04
gene23227-v1.0-hybrid	Pentatricopeptide repeat-containing protein At2g16880 (probable)	0,41	0,19	0,48
gene23249-v1.0-hybrid	Sporulation protein RMD1 (probable)	9,40	8,80	9,21
gene23329-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,20	0,06	0,21
gene23339-v1.0-hybrid	CDP-diacylglycerol--glycerol-3-phosphate 3-phosphatidyltransferase (PGP synthase) (probable)	7,41	6,00	7,25
gene23342-v1.0-hybrid	Protein IN2-1 homolog B (similar to)	5,92	4,17	6,33
gene23379-v1.0-hybrid	Splicing factor 3B subunit 3 (putative)	0,04	0,12	0,09
gene23569-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [161591,161610] TIM21-like protein, mitochondrial, Precursor (probable)	5,05	3,40	5,59
gene23617-v1.0-hybrid	Negative RAS protein regulator protein (probable)	0,10	0,00	0,04

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene23646-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [682769,683586] DNA-damage-repair/toleration protein DRT102 (similar to)	0,02	0,00	0,03
gene23735-v1.0-hybrid	Serine/threonine protein phosphatase 2A 57 kDa regulatory subunit B' beta isoform (PP2A, B' subunit, beta isoform) (probable)	0,77	0,40	0,80
gene23740-v1.0-hybrid	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 5, chloroplastic (probable)	0,18	0,00	0,03
gene23833-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,96	0,73	1,02
gene23967-v1.0-hybrid	Cellulose synthase-like protein H1 (probable)	0,47	1,33	0,65
gene24302-v1.0-hybrid	Fanconi anemia group D2 protein homolog (Protein FACD2) (probable)	0,01	0,06	0,02
gene24405-v1.0-hybrid	Peroxidase 15 (Prx15), Precursor (similar to)	0,01	0,04	0,02
gene24429-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,00	0,05	0,02
gene24670-v1.0-hybrid	BTB/POZ domain-containing protein At5g48800 (probable)	0,46	0,08	0,13
gene24740-v1.0-hybrid	Putative F-box protein At5g15660 (probable)	5,18	3,30	5,36
gene24904-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 28	0,48	0,79	0,52
gene24923-v1.0-hybrid	6-phospho-beta-galactosidase (PGALase) (probable)	0,51	0,30	0,50
gene24997-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (probable)	0,06	0,02	0,06
gene25009-v1.0-hybrid	hypothetical protein	21,46	19,07	22,88
gene25035-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [170210,170229] Glutamyl-tRNA reductase (GluTR) (probable)	0,03	0,00	0,01
gene25089-v1.0-hybrid	12-oxophytodienoate reductase 1 (OPDA-reductase 1) (similar to)	0,75	0,36	0,93
gene25164-v1.0-hybrid	Checkpoint serine/threonine-protein kinase BUB1 (probable)	0,63	0,35	0,59
gene25236-v1.0-hybrid	Protein transport protein SEC31 (probable)	0,34	0,00	0,66
gene25323-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [378175,378194] RNA polymerase-associated protein rapA (probable)	0,53	0,30	0,62
gene25324-v1.0-hybrid	Putative AC transposase (probable)	0,32	0,17	0,38
gene25421-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [315530,315549] Anthocyanin 3'-O-beta-glucosyltransferase (3'GT) (similar to)	0,47	0,99	0,66
gene25572-v1.0-hybrid	DNA polymerase kappa (probable)	1,32	1,00	1,27
gene25575-v1.0-hybrid	Menaquinone biosynthesis methyltransferase ubiE (probable)	0,00	0,04	0,02
gene25651-v1.0-hybrid	GATA transcription factor 11 (AtGATA-11) (probable)	0,49	1,06	0,55
gene25663-v1.0-hybrid	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 13 (AtUBP13) (probable)	0,16	0,07	0,07
gene25743-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,55	0,16	0,65
gene25790-v1.0-hybrid	Nogo-B receptor (NgBR), Precursor (probable)	0,00	0,02	0,01
gene25791-v1.0-hybrid	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit G (eIF3g) (similar to)	3,23	4,44	3,93
gene25973-v1.0-hybrid	Transcription factor bHLH135 (bHLH 135) (similar to)	0,18	0,32	0,18
gene25988-v1.0-hybrid	Probable glutathione S-transferase	98,13	77,95	96,19
gene26033-v1.0-hybrid	Exonuclease VII large subunit similar	1,37	0,16	2,17

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene26111-v1.0-hybrid	Cleavage stimulation factor 50 kDa subunit (CSTF 50 kDa subunit) (probable)	0,51	0,29	0,71
gene26168-v1.0-hybrid	ASC1-like protein 1 (similar to)	5,67	4,69	6,33
gene26169-v1.0-hybrid	Agmatine deiminase (similar to)	15,75	13,35	14,43
gene26175-v1.0-hybrid	Enolase A (similar to)	3,50	5,48	3,63
gene26177-v1.0-hybrid	hypothetical protein	5,65	4,20	4,93
gene26357-v1.0-hybrid	Putative ribonuclease H protein At1g65750 (probable)	0,06	0,16	0,04
gene26507-v1.0-hybrid	Leucine-rich repeat-containing protein 16B (probable)	0,12	0,05	0,17
gene26622-v1.0-hybrid	Heat shock cognate 70 kDa protein (similar to)	0,15	0,05	0,08
gene26623-v1.0-hybrid	Heat shock cognate 70 kDa protein (similar to)	0,03	0,01	0,02
gene26776-v1.0-hybrid	ATP-dependent Clp protease ATP-binding subunit clpA homolog CD4B, chloroplastic, Precursor (probable)	9,80	8,53	10,12
gene26815-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [86269,86288] Fe(2+) transport protein 1, Precursor (similar to)	1,35	1,75	1,49
gene26960-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,01	0,00	0,01
gene26978-v1.0-hybrid	Poly(A) RNA polymerase gld-2 homolog A (DmGLD2) (similar to)	0,42	0,16	0,37
gene27045-v1.0-hybrid	69 kDa protein (probable)	0,76	0,33	0,64
gene27049-v1.0-hybrid	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 6 ((1->3)-beta-glucanase 6), Precursor (similar to)	0,21	0,09	0,20
gene27101-v1.0-hybrid	RNA polymerase II transcription factor SIII subunit A3 (EloA3) (probable)	0,56	1,18	0,67
gene27129-v1.0-hybrid	HVA22-like protein a (AtHVA22a) (probable)	0,05	0,00	0,03
gene27193-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [50971,55049] F-box protein At3g07870 (probable)	0,03	0,01	0,02
gene27255-v1.0-hybrid	Epidermis-specific secreted glycoprotein EP1, Precursor (probable)	0,08	0,00	0,30
gene27259-v1.0-hybrid	Uroporphyrinogen decarboxylase 1, chloroplastic (URO-D1), Precursor (similar to)	2,90	2,33	3,31
gene27333-v1.0-hybrid	Zinc finger MYM-type protein 2 (probable)	0,07	0,01	0,09
gene27344-v1.0-hybrid	hypothetical protein	0,06	0,01	0,07
gene27348-v1.0-hybrid	Protein RUPTURED POLLEN GRAIN 1 (probable)	0,13	0,06	0,12
gene27538-v1.0-hybrid	Cleavage stimulation factor 64 kDa subunit (CSTF 64 kDa subunit) (similar to)	5,57	4,02	6,78
gene27573-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1388445,1388811] Regulatory protein E2 (probable)	0,12	0,06	0,06
gene27651-v1.0-hybrid	Ras-related protein Rab5 (similar to)	2,84	0,81	2,29
gene27851-v1.0-hybrid	Probable glutathione peroxidase 5 (similar to)	2,35	1,99	2,61
gene27852-v1.0-hybrid	PHD finger protein rhinoceros (probable)	0,78	0,49	0,78
gene27903-v1.0-hybrid	Elongation factor Tu GTP-binding domain-containing protein 1 (probable)	0,06	0,03	0,04
gene28028-v1.0-hybrid	Poly(ADP-ribose) glycohydrolase 1 (putative)	2,01	1,45	1,97
gene28032-v1.0-hybrid	Protein cbbY (probable)	0,05	0,00	0,03
gene28077-v1.0-hybrid	Probable esterase At1g33990	0,86	0,69	1,22
gene28100-v1.0-hybrid	Werner syndrome ATP-dependent helicase homolog (probable)	189,07	180,18	172,19

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene28197-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1138814,1138833] Mucin-2 (MUC-2), Precursor (probable)	0,00	0,03	0,00
gene28249-v1.0-hybrid	F-box protein At4g12560 (probable)	0,06	0,39	0,33
gene28298-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [382948,382967] Probable rRNA-processing protein EBP2 homolog	0,00	0,05	0,00
gene28364-v1.0-hybrid	Probable disease resistance protein At5g66910	1,07	0,57	1,10
gene28375-v1.0-hybrid	Auxin-induced protein 5NG4 (probable)	4,05	3,38	4,82
gene28420-v1.0-hybrid	Pre-mRNA-splicing factor CWC22 homolog (probable)	0,17	0,48	0,24
gene28439-v1.0-hybrid	Shaggy-related protein kinase epsilon (similar to)	6,24	5,32	6,77
gene28476-v1.0-hybrid	Denticleless protein homolog (probable)	1,48	1,18	1,57
gene28487-v1.0-hybrid	NAC domain-containing protein 74 (ONAC074) (probable)	0,00	0,11	0,04
gene28521-v1.0-hybrid	Probable gibberellin receptor GID1L1	3,40	4,10	2,76
gene28588-v1.0-hybrid	Transmembrane protein C20orf46 (probable)	0,71	0,29	0,70
gene28707-v1.0-hybrid	Cortactin-binding protein 2 (CortBP2) (probable)	3,11	1,99	2,90
gene28720-v1.0-hybrid	Probable WRKY transcription factor 71	60,46	56,03	60,72
gene28723-v1.0-hybrid	Protein PXR1 (probable)	0,09	0,04	0,09
gene28748-v1.0-hybrid	Hydroxyacylglutathione hydrolase 3, mitochondrial (Glx II), Precursor (putative)	2,73	2,35	3,37
gene28788-v1.0-hybrid	Tetratricopeptide repeat protein 7B (TPR repeat protein 7B) (probable)	0,61	0,41	0,71
gene28959-v1.0-hybrid	Protein FLOWERING LOCUS T (similar to)	0,12	0,05	0,09
gene28998-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [110470,110489] 1,2-dihydroxy-3-keto-5-methylthiopentene dioxygenase 4 (similar to)	0,88	0,68	0,81
gene29085-v1.0-hybrid	NAC domain-containing protein 74 (ONAC074) (probable)	0,22	0,00	0,11
gene29121-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [832679,833429] DEAD-box ATP-dependent RNA helicase 5 (similar to)	0,02	0,04	0,04
gene29235-v1.0-hybrid	Metacaspase-1 (AtMCP1b) (probable)	0,52	0,34	0,47
gene29524-v1.0-hybrid	Protein spinster homolog 1 (probable)	2,81	2,08	3,10
gene29727-v1.0-hybrid	Mitochondrial substrate carrier family protein S (CAC) (probable)	1,90	1,55	2,72
gene29811-v1.0-hybrid	GDSL esterase/lipase At5g45920 (putative)	6,74	5,57	6,55
gene29855-v1.0-hybrid	Chlorophyllase-2, chloroplastic (AtCLH2), Precursor (similar to)	0,25	0,00	0,17
gene30007-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 93A3 (probable)	0,04	0,00	0,04
gene30021-v1.0-hybrid	Transmembrane protein 135 (probable)	6,46	7,77	7,62
gene30033-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [218901,219796] Probable LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase At1g56130, Precursor	0,38	0,27	0,29
gene30036-v1.0-hybrid	Probable beta-1,3-galactosyltransferase 5	1,06	0,38	1,12
gene30054-v1.0-hybrid	UPF0176 protein LACR_1324 (probable)	0,14	0,06	0,17
gene30171-v1.0-hybrid	L-seryl-tRNA(Sec) selenium transferase (Sec synthase) (probable)	0,54	0,16	0,78

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene30182-v1.0-hybrid	Scarecrow-like protein 33 (AtSCL33) (probable)	0,71	0,32	0,57
gene30257-v1.0-hybrid	Protein E6 (probable)	0,52	0,25	0,51
gene30460-v1.0-hybrid	PAP-specific phosphatase HAL2-like (similar to)	5,83	5,47	5,89
gene30472-v1.0-hybrid	Nuclease PA3 (probable)	2,65	1,90	2,79
gene30563-v1.0-hybrid	Probable basic-leucine zipper transcription factor C	0,07	0,01	0,06
gene30633-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1638270,1638289] Putative serine/threonine-protein kinase receptor (SRK), Precursor (probable)	0,04	0,00	0,06
gene30650-v1.0-hybrid	Putative serine/threonine-protein kinase receptor (SRK), Precursor (probable)	0,54	0,30	0,67
gene30741-v1.0-hybrid	MADS-box protein SVP (probable)	9,60	6,72	9,22
gene30764-v1.0-hybrid	Facilitator of iron transport 1, Precursor (probable)	0,00	0,17	0,00
gene30918-v1.0-hybrid	Branchpoint-bridging protein (probable)	3,66	2,12	3,20
gene31020-v1.0-hybrid	Homeobox protein araucan (probable)	2,88	3,36	2,72
gene31083-v1.0-hybrid	Polyferredoxin protein vhuB (probable)	0,98	0,60	0,61
gene31094-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [1033876,1033895] Beta-1,4-mannosyl-glycoprotein 4-beta-N-acetylglucosaminyltransferase (N-acetylglucosaminyltransferase III) (probable)	13,42	10,55	14,86
gene31343-v1.0-hybrid	Probable inactive receptor kinase At4g23740, Precursor (similar to)	0,60	0,39	0,63
gene31414-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [910038,910057] Inverted formin-2 (probable)	0,12	0,16	0,21
gene31437-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [645005,645074] F-box protein At4g12560 (probable)	0,18	0,28	0,20
gene31677-v1.0-hybrid	Cell division control protein 2 homolog (similar to)	2,22	1,57	2,55
gene31860-v1.0-hybrid	Ubiquitin ligase-binding protein BUL2 (probable)	3,01	1,91	2,64
gene31911-v1.0-hybrid	Balbani ring protein 3, Precursor (probable)	37,68	33,89	40,46
gene31913-v1.0-hybrid	Pathogenesis-related protein 1A (PR-1A), Precursor (similar to)	0,70	0,53	0,78
gene32078-v1.0-hybrid	Cytokinin-N-glucosyltransferase 2 (probable)	21,61	56,96	20,00
gene32229-v1.0-hybrid	Oxysterol-binding protein-related protein 3 (OSBP-related protein 3) (probable)	0,34	0,18	0,29
gene32314-v1.0-hybrid	Multidrug and toxin extrusion protein 1 (MATE-1) (probable)	0,22	0,48	0,30
gene32464-v1.0-hybrid	F-box/FBD/LRR-repeat protein At1g16930 (probable)	0,11	0,02	0,20
gene32471-v1.0-hybrid	F-box/LRR-repeat protein At4g14096 (probable)	0,20	0,14	0,19
gene32677-v1.0-hybrid	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit A (eIF3a) (probable)	10,10	6,84	11,98
gene32682-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [495570,497053] Endonuclease (probable)	0,05	0,01	0,03
gene32689-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [540027,540046] Bloom syndrome protein homolog (Dmb1m) (probable)	0,00	0,04	0,00

ID	Función	RPKM de Control	RPKM de etr1-1 L10	RPKM de etr1-1 L12
gene33904-v1.0-hybrid	Zinc finger protein 579 (probable)	0,05	0,36	0,10
gene34069-v1.0-hybrid	Synaptonemal complex protein 1 (SCP-1) (probable)	0,11	0,00	0,13
gene34159-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [278286,278305] 60S ribosomal protein L5 (similar to)	0,00	0,15	0,15
gene34372-v1.0-hybrid	Protein crcB homolog (probable)	0,12	0,00	0,12
gene34591-v1.0-hybrid	Putative transcription elongation factor SPT5 homolog 1 (probable)	0,35	0,00	0,11
gene34611-v1.0-hybrid	Cytochrome P450 71A1 (probable)	1,58	0,94	1,41
gene34665-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [115907,115926] Alpha-amylase isozyme C (probable)	0,27	0,13	0,20
gene34686-v1.0-hybrid	Phage transposase (probable)	0,12	0,60	0,24
gene34768-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [308662,308681] CTP synthase (probable)	0,00	0,03	0,01
gene34839-v1.0-hybrid	Osteopontin (SPP-1), Precursor (probable)	0,07	0,30	0,00
gene34948-v1.0-hybrid	overlaps bad segment [194487,194506] Serine/threonine-protein phosphatase BSL3 (similar to)	0,00	0,25	0,10
gene35111-v1.0-hybrid	TMV resistance protein N (similar to)	0,09	0,03	0,10
gene35178-v1.0-hybrid	Probable ATP-citrate synthase	12,71	10,54	14,02