

## INFORME DE DIFUSIÓN PROGRAMA FORMACION APOYO A LA PARTICIPACION

2003

### **1 Nombre de la propuesta :**

Implementación en *Pinus radiata* de la técnica de AFLP-TP para el estudio expresión génica en embriogénesis somática

### **1.1 Modalidad**

Pasantía o entrenamiento

### **1.2 Lugar donde se llevo a cabo la formación**

Departamento de Genética Molecular. Unidad de Sistemas biológicos vegetales.  
Universidad de Gante, Bélgica

### **1.3 Rubro / Area temática de la actividad de formación**

Biología Forestal/ Biología molecular

### **1.4 Fecha en la que se efectuó la actividad de formación:**

6 de Diciembre 2003- 6 de Marzo 2004

### **1.5 Participante (s)**

José Felipe Aquea Zeballos

### **1.6 Entidad Responsable**

Pontificia Universidad Católica de Chile

### **1.7 Coordinador (en caso de propuestas grupales)**

Dr. Patricio Arce-Johnson

### 1.8 Identificación de los participantes de la propuesta

NOMBRE	RUT	FONO	FAX	E-MAIL	DIRECCION	ACTIVIDAD PRINCIPAL (indicar si es profesional, técnico o productor)	ETNIA (indicar si pertenece a alguna)	FIRMA
José Felipe Aquea		6862579	2225515	jaquea@puc.c	Alameda 340 Laboratorio de Bioquímica	Biólogo. Investigador asociado		

## 2. ACTIVIDADES DE TRASFERENCIA

### 2.1. Resumen actividades de transferencia PROPUESTAS

FECHA	ACTIVIDAD	OBJETIVO	LUGAR	Nº y TIPO BENEFICIARIOS
19 de Marzo 2004	Informe escrito de la realización de esta actividad	Entregar el protocolo de la técnica AFLP-TP	FIA, Santiago	Investigadores de Universidades, Institutos, Ministerio de Agricultura, SAG, FIA, ODEPA, etc.
7 Abril 2004	Seminario de difusión	Difundir el conocimiento en el ámbito científico	Santiago	Investigadores de Universidades e Institutos.
14 Abril 2004	Seminario de difusión	Difundir el conocimiento en el ámbito Forestal	Santiago	Jefes de investigación forestal Mininco y Arauco

## 2.1. Resumen actividades de transferencia REALIZADAS

FECHA	ACTIVIDAD	OBJETIVO	LUGAR	Nº y TIPO BENEFICIARIOS
20 de Mayo 2004	Informe escrito de la realización de esta actividad	Entregar el protocolo de la técnica AFLP-TP	FIA, Santiago	Investigadores de Universidades, Institutos, Ministerio de Agricultura, SAG, FIA, ODEPA, etc
18 de Mayo	Seminario de difusión	Dar a conocer el trabajo realizado, el manejo de la técnica y su aplicabilidad en la biotecnología vegetal	Laboratorio de Bioquímica Pontificia Universidad Católica de Chile	Alumnos de bioquímica, estudiantes de doctorado, Profesores de la universidad
17 de Mayo	Seminario de difusión	Dar a conocer el trabajo realizado a jefes de investigación de empresas forestales	Laboratorio de Bioquímica Pontificia Universidad Católica de Chile	Victor Sierra jefe de investigación Forestal Mininco
21-25 de Junio	Presentación en congreso REDBIO 2004	Dar a conocer el trabajo que se realizo al mundo científico latinoamericano	Boca Chica, Republica Dominicana	Investigadores científicos de Latinoamérica

## 2.2. Detalle por actividad de transferencia REALIZADAS

**Fecha: 20 de Mayo 2004**

Lugar (Ciudad e Institución) FIA, Santiago

Actividad (en este punto explicar con detalle la actividad realizada y mencionar la información entregada) Entrega del protocolo de la técnica AFLP-TP, anexado en este informe (Anexo 2)

**Fecha: 17 de Mayo 2004**

Lugar (Ciudad e Institución) Laboratorio de Bioquímica, PUC, Santiago

Actividad (en este punto explicar con detalle la actividad realizada y mencionar la información entregada)

Se presentó al jefe de Investigación de la Forestal Mininco Sr. Victor Sierra la investigación realizada en Bélgica. Se le presentó la Técnica de AFLP-TP como una herramienta que se puede incorporar en la optimización de la embriogénesis somática en *Pinus radiata* y su aplicabilidad a otras especies de interés forestal como *Eucalyptus globulus*. Se hizo hincapié en la ayuda fundamental del FIA en el desarrollo de esta investigación

**Fecha: 18 de Mayo 2004**

Lugar (Ciudad e Institución) Laboratorio de Bioquímica, PUC, Santiago

Actividad (en este punto explicar con detalle la actividad realizada y mencionar la información entregada)

Se presentó a alumnos de pregrado y postgrado de la universidad católica la investigación desarrollada en Bélgica. Se presentó la técnica de AFLP-TP como una herramienta para la identificación de genes expresados en un proceso biológico determinado, utilizando como modelo embriones somáticos de *Pinus radiata*. Se hizo hincapié en la ayuda fundamental del FIA en el desarrollo de esta investigación

**Fecha: 21-25 de Junio 2004**

Lugar (Ciudad e Institución) V Congreso Latinoamericano de Biotecnología Vegetal, Boca Chica, Republica Dominicana

Actividad (en este punto explicar con detalle la actividad realizada y mencionar la información entregada)

En este congreso se presentarán los resultados obtenidos durante la pasantía realizada en Bélgica. Los resultados serán presentados en formato poster dentro de una de las sesiones organizadas de este congreso. Dentro de los agradecimientos se mencionará la ayuda del FIA en la realización de esta investigación

## **2.2. Especificar el grado de éxito de las actividades propuestas, dando razones de los problemas presentados y sugerencias para mejorar.**

---

Las actividades de difusión se realizaron con gran éxito, siendo muy bien evaluadas por los participantes. Encontraron de buen nivel el trabajo presentado, dándose cuenta del gran potencial que existe en la implementación de esta técnica en el estudio de la embriogénesis somática en *Pinus radiata* y en otras especies vegetales de interés comercial. En cuanto a la charla de difusión al jefe de investigación de la Forestal Mininco, encontró que el trabajo que se está iniciando en nuestro laboratorio es de gran ayuda para mejorar el proceso de embriogénesis somática en *Pinus radiata*. Se discutió la utilización de la técnica de AFLP-TP en el estudio de otras etapas de la embriogénesis somática, tales como en la inducción de genotipos recalcitrantes y en la maduración de genotipos criopreservados. También se discutió la posibilidad de incorporar esta técnica en el estudio de otras especies de interés para las forestales, tales como la intolerancia al frío de *Eucalyptus globulus*.

---

**2.3. Listado de documentos o materiales mostrados en las actividades y entregados a los asistentes (escrito y/o visual). (Se debe adjuntar una copia del material)**

<b>Tipo de material</b>	<b>Nombre o identificación</b>	<b>Idioma</b>	<b>Cantidad</b>
Presentación en Power Point	Identificación de genes expresados diferencialmente durante la embriogénesis somática temprana de <i>Pinus radiata</i> mediante AFLP-TP	Español	1
Presentación en Power Point	Incorporación de la técnica de AFLP-TP en la optimización del proceso de embriogénesis somática en <i>Pinus radiata</i>	Español	1
Resumen Congreso	"Identificación de genes que se expresan diferencialmente durante la embriogénesis somática temprana de <i>Pinus radiata</i> "	Español Ingles	1

### 3. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

Indicar los problemas administrativos que surgieron en la preparación y realización de las actividades de difusión.

---

La charla de difusión propuesta a los jefes de Investigación de la Forestal Mininco y Arauco tuvo problemas de coordinación, debido a que fue imposible encontrar una fecha para realizar la charla en los Ángeles o Concepción, lugar donde se encuentran los laboratorios de investigación. El principal impedimento fue que no pude ausentarme de Santiago en días hábiles debido a compromisos académicos y particulares. Solo se le presento el trabajo realizado al jefe de investigación de la Forestal Mininco. De esta reunión se acordó realizar una charla a los investigadores del INIA Chillán y técnicos de la Forestal Mininco en una fecha próxima.

El retraso en la realización de las actividades de difusión en las fechas propuestas se debió a que se esperaba realizar un análisis preliminar de los geles, e identificar algunos genes con un patrón de expresión interesante, contextualizando mejor el trabajo. Este análisis se retraso debido a problemas técnicos ajeno a nuestro laboratorio.

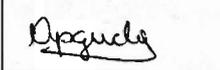
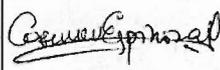
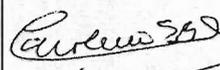
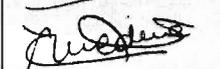
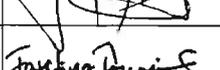
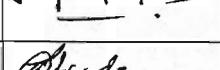
---

Fecha: 20 - Mayo 2004

Firma responsable de la ejecución: \_\_\_\_\_



### ASISTENTES A ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN

Nombre	Rut	Actividad Principal (indicar si es profesional, técnico o productor)	Institución o Empresa	Etnia (indicar si pertenece a alguna)	Fono	Fax	E-mail	Dirección	Firma
Paola Cañón		Estudiante Doctorado	P.U.C.		686-2579		pcañon@puc.cl	Alameda 340	
Andrés Vega		Estudiante Doctorado	P.U.C.		686-2579		avegas@puc.cl	Alameda 340	
Andrés Gutiérrez		Técnico en Química Ayudante de Doctorado	P.U.C.		686-2579		andregut170p@hotmail.com	Alameda 340	
Carmen Espinoza		Bióquímica Asista Doctorado	PUC		6862579		cespuc@genes.bio.puc.cl	Alameda 340	
Carolina Soriano		Bióquímica Asista de Doctorado	PUC		6862579		csorran@puc.cl	Alameda 340	
Consuelo Medina		Bióloga Investigadora Asst.	PUC		6862579		parce2@genes.bio.puc.cl	Alameda 340	
José Tomás Matos Picero		Estudiante Doctorado Ciencias de la Agricultura	Fac. Química PUC		6864998		jtmatuse@puc.cl	Vicuña Mackenna 3860	
Mª Josefina Poupin S.		Estudiante doctorado Ciencias Probólicas.	PUC		6862579		mpoupin@puc.cl	Alameda 340	
Agnes Cadavid		Estudiante Doc. U Chile Fac. Agronomía U Chile	U Chile		6785729		acadavid@uchile.cl	Santa Rosa 11315	

### ASISTENTES A ACTIVIDAD DE DIFUSIÓN

Nombre	Rut	Actividad Principal (Indicar si es profesional, técnico o productor)	Institución o Empresa	Etnia (Indicar si pertenece a alguna)	Fono	Fax	E-mail	Dirección	Firma
Patricio Ance J		Profesor Adjunto PUC	PUC		686 2897		puce @ genes. bio. puc. cl	Alameda 340	Patricio Ance Johnson





Pontificia Universidad Católica de Chile  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Departamento Genética Molecular y Microbiología

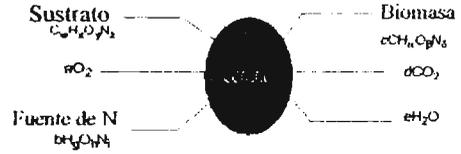


GOBIERNO DE CHILE  
EJECUTIVO PARA LA  
INNOVACIÓN TECNOLÓGICA

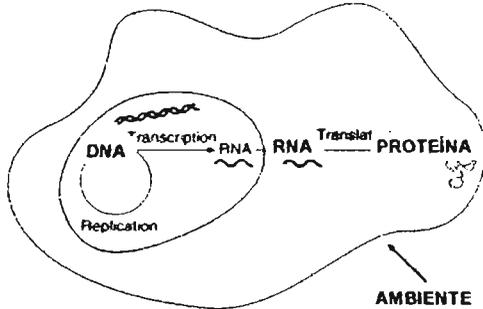
"Incorporación de la técnica de AFLP-TP en la optimización del proceso de embriogénesis somática en *Pinus radiata*"

Felipe Aquea Zeballos

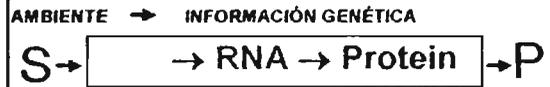
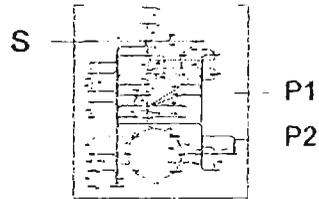
### Representación macroscópica del metabolismo celular



### El flujo de la información genética en la célula eucarionte

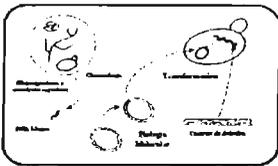
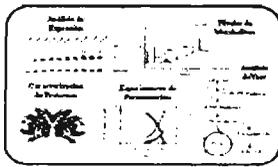


### MODELO METABÓLICO

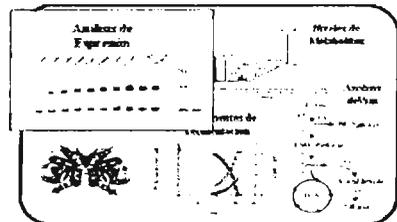


### INGENIERÍA METABÓLICA

Uso de modificaciones genéticas y/o fisiológicas dirigidas para incrementar la formación de productos en una célula o sus propiedades celulares.

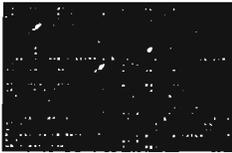


### PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA



## PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA

Transcriptoma



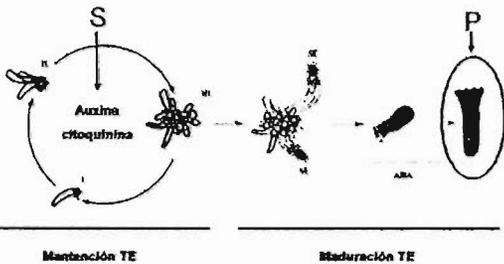
Proteoma



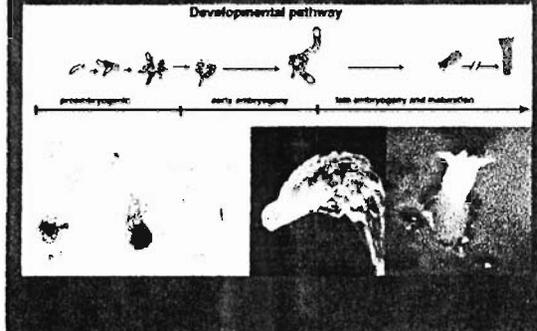
## Aplicaciones del análisis de flujos metabólicos

- Cuantificación de la Fisiología celular
- Formulación óptima de medios de cultivo
- Diseño y optimización de bioprocesos
- "Blancos" para ingeniería genética

## Embriogénesis somática en *Pinus radiata*

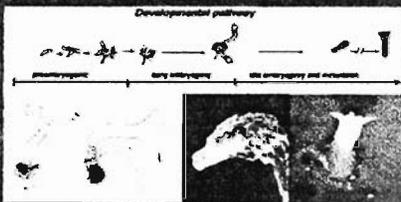


## Embriogénesis somática en *Pinus radiata*



## Embriogénesis somática en *P. radiata*

- Activación o represión de vías de transducción de señales
- Expresión diferencial de genes
- Se desconocen estos eventos en coníferas



## OBJETIVO GENERAL

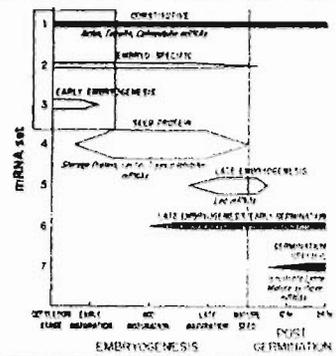
"IDENTIFICAR GENES QUE SE EXPRESAN DIFERENCIALMENTE DURANTE LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA EN *Pinus radiata*"

### Embriogénesis somática en P. radiata

Conocer eventos moleculares involucrados en la embriogénesis somática.

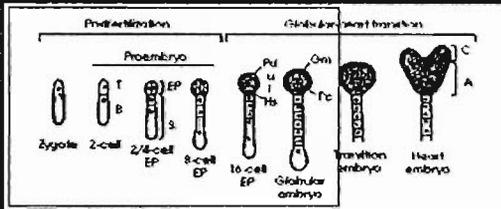
- Inferir la activación o represión de vías metabólicas
- Conocer estímulos externos que controlan la expresión de los genes identificados
- Identificar "marcadores moleculares" específicos de cada estado de desarrollo

### Cambios en la abundancia de mRNA durante la embriogénesis



### Embriogénesis somática temprana

- Establecimiento eje apical-basal
- Formación de principales tipos celulares y tejidos



### TÉCNICAS UTILIZADAS EN ESTUDIO DE EXPRESIÓN GÉNICA

Técnica	Aplicación	Resolución temporal	Resolución espacial
Microarrays	Genómica	Baja	Baja
Chips de ADN	Genómica	Baja	Baja
Microarrays de proteínas	Proteómica	Baja	Baja
Chips de proteínas	Proteómica	Baja	Baja
Microarrays de lípidos	Lipidómica	Baja	Baja
Chips de lípidos	Lipidómica	Baja	Baja
Microarrays de metabolitos	Metabolómica	Baja	Baja
Chips de metabolitos	Metabolómica	Baja	Baja
Microarrays de células	Citómica	Baja	Baja
Chips de células	Citómica	Baja	Baja
Microarrays de tejidos	Genómica	Baja	Baja
Chips de tejidos	Genómica	Baja	Baja
Microarrays de órganos	Genómica	Baja	Baja
Chips de órganos	Genómica	Baja	Baja
Microarrays de organismos	Genómica	Baja	Baja
Chips de organismos	Genómica	Baja	Baja

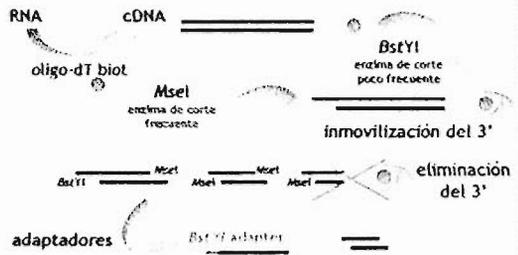
Current Opinion in Plant Biology 2001, 4:136-142

### Estados de desarrollo analizados

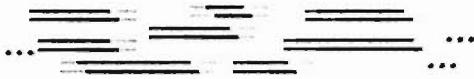


Figura 1. Estados de desarrollo de P. radiata analizados. Se muestran imágenes de microscopio electrónico de transmisión (TEM) y microscopio de fluorescencia (FM) de los estados de desarrollo de P. radiata.

### AFLP-TP Principio



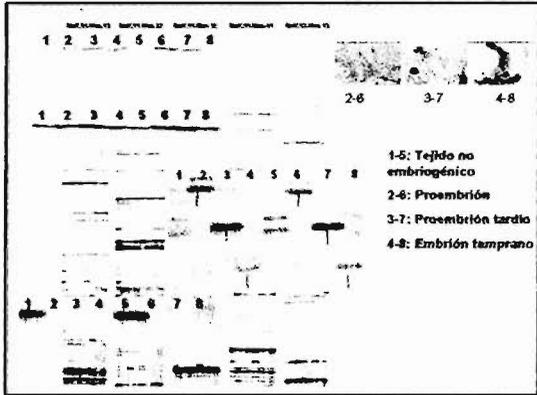
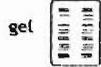
## AFLP-TP Principio



primera amplificación: *BstYI*-primers —T *MspI*-primer  
—C

segunda amplificación: *BstYI*-primers —T-2N *MspI*-primer  
—C-2N  
2'P-ATP

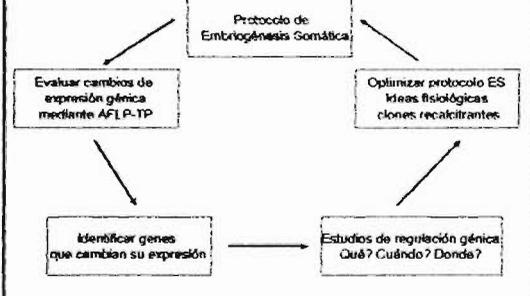
2x16x4=128  
parejas de partidores



## TABLA RESULTADOS PRELIMINARES

TDF total:	1960	100 %
TDF expresados diferencialmente	70	3.57 %
TDF no embriogénicos:	31	1.58 %
TDF embriogénicos:	39	1.99 %

## Estrategia para la optimización del protocolo de embriogénesis somática




 Pontificia Universidad Católica de Chile  
 Facultad de Ciencias Biológicas  
 Departamento de Genética, Microbiología y Moleculología


 GOBIERNO DE CHILE  
 FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN ACADÉMICA

"Identificación de genes expresados diferencialmente durante la embriogénesis somática temprana de *Pinus radiata*"

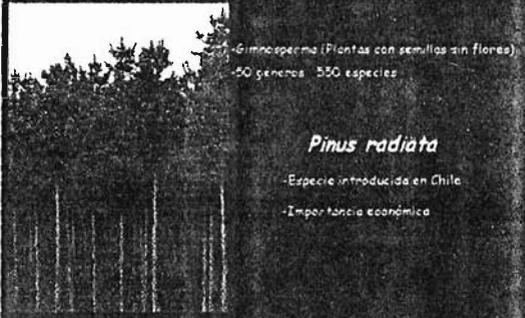
FELIPE AQUEA Z.  
 ABRIL 2004

**Coníferas**

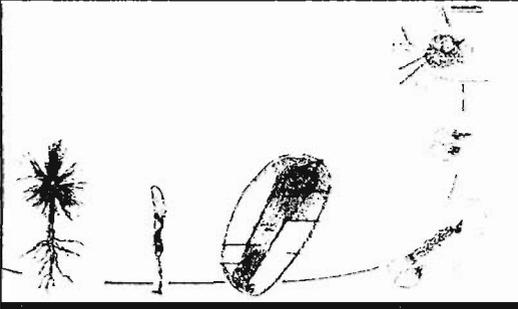
- Gimnospermas (Plantas con semillas sin flores)  
 - 50 géneros - 350 especies

***Pinus radiata***

- Especie introducida en Chile  
 - Importancia económica



**Embriogénesis cigótica en coníferas**



**Embriogénesis cigótica en coníferas**

Proembriogénesis: hasta antes de la elongación del suspensor.  
 Embriogénesis temprana: hasta antes de la formación del meristema radicular.  
 Embriogénesis tardía: establecimiento de los meristemas apicales y radicales.

**Developmental pathway**

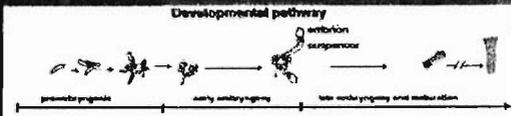


Fig. 1. Embryology of pine (Pinus sp.).

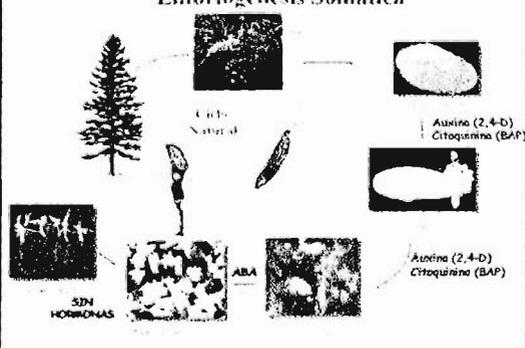
**Embriogénesis Somática**

- Formación de embriones a partir de células somáticas o diferenciadas.

**USOS:**

- Modelo de estudio para investigar eventos iniciales de la embriogénesis cigótica.
- Propagación masiva de plantas de interés comercial.

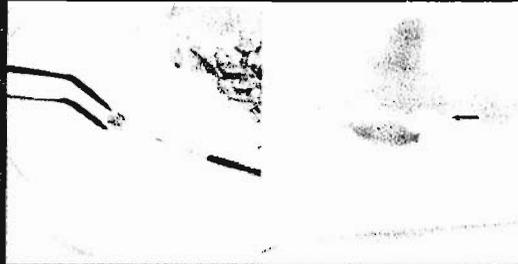
**Embriogénesis Somática**



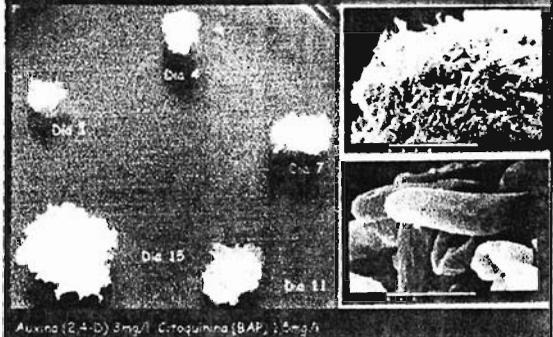
Ciclo Natural  
 Auxina (2,4-D)  
 Citoquinina (BAP)  
 ABA  
 SIN HORMONAS  
 Auxina (2,4-D)  
 Citoquinina (BAP)

### Iniciación embriogénesis somática

Inducción: Rescate de tejido embriogénico desde el megagametofito



### Proliferación tejido embriogénico



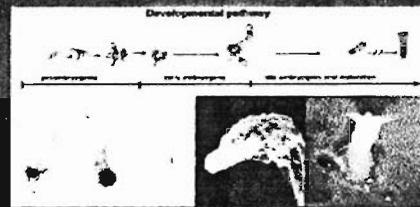
### Maduración de embriones somáticos



Ácido abscísico (ABA) 15mg/l Glutamina 7g/l Arginina 1g/l

### Embriogénesis somática en *P. radiata*

- Activación o represión de vías de transducción de señales
- Expresión diferencial de genes
- Se desconocen estos eventos en coníferas



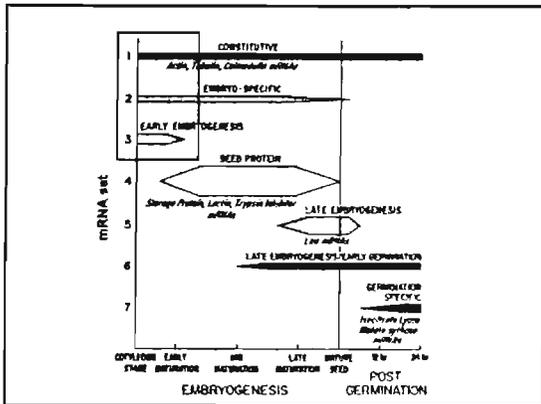
### OBJETIVO GENERAL

"IDENTIFICAR GENES QUE SE EXPRESAN DIFERENCIALMENTE DURANTE LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA EN *Pinus radiata*"

### Embriogénesis somática en *P. radiata*

Conocer eventos moleculares involucrados en la embriogénesis somática:

- Inferir la activación o represión de vías metabólicas
- Conocer estímulos externos que controlan la expresión de los genes identificados
- Identificar "marcadores moleculares" específicos de cada estado de desarrollo



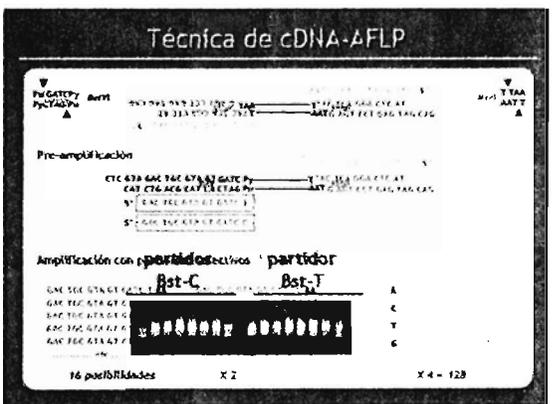
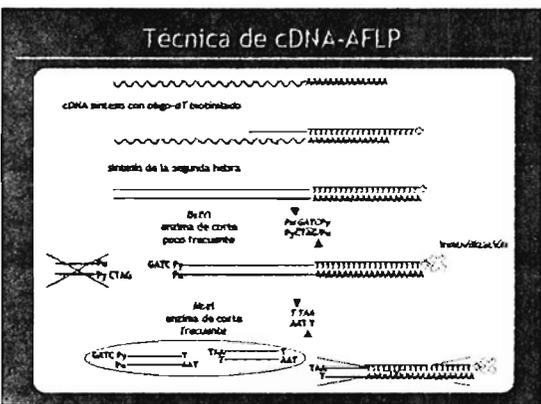
### Embriogénesis somática temprana

- Establecimiento eje apical-basal
- Formación de principales tipos celulares y tejidos

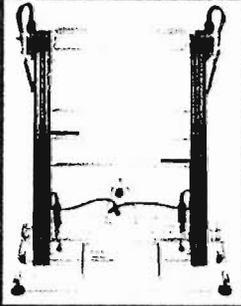
### TÉCNICAS UTILIZADAS EN ESTUDIO DE EXPRESIÓN GENICA

	Microarray	Microarray	Microarray
Resolución	High	High	High
Especificidad	High	Low	High
Expresión nivel transcritos	High	Medium	Medium
Alcance	Yes	Yes	No
Alcance nivel transcritos	Yes	Yes	No
Alcance nivel transcritos	Yes	Yes	No
Alcance nivel transcritos	High	Low	High
Alcance nivel transcritos	High	Low	High
Alcance nivel transcritos	High	Low	High
Alcance nivel transcritos	High	Low	High

Current Opinion in Plant Biology 2001, 4:136-142



## Técnica de cDNA-AFLP



1 2 3 4 5 6 7 8



28 combinaciones  
Aprox. 2000  
fragmentos  
derivados de  
transcrito (TDF)

1 2 3 4 5 6 7 8



1 2 3 4 5 6 7 8



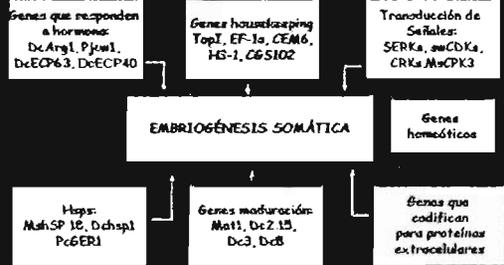
Proembrión  
(Carril 2-5)

Proembrión  
tardío  
(Carril 3-7)

Embrión  
temprano  
(Carril 4-8)

Tejidos no embriogénico (Carril 1-4)

## Genes identificados en embriogénesis somática



## SEPR 1

1 2 3 4 5 6 7 8



Alfa-galactosidasa: degradación oligosacáridos  
(rafinosa, galactomanosa)

Función: translocación fotoasimilados, almacenaje  
carbohidratos, remodelación pared celular

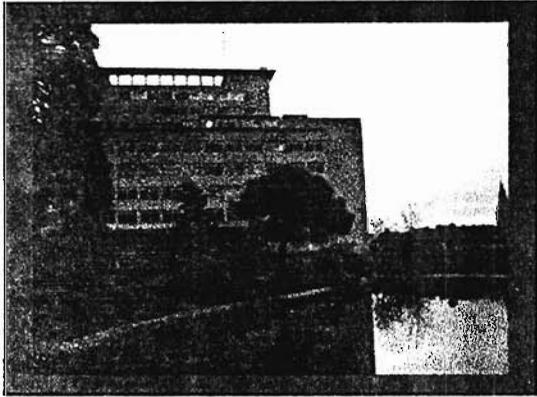
## Lo que viene...

### Corto plazo:

- Selección TDF seleccionados
- Verificar los transcritos mediante Northern Blot
- Cuantificar nivel de expresión

### Large plazo:

- Análisis funcional
- Búsqueda de regulación génica



Abril 22, 2004  
Santo Domingo  
República Dominicana

Estimado **Felipe Aquea Z.:**

Por medio de la presente acusamos recibo de su ponencia titulada “**Identificación de genes que se expresan diferencialmente durante la embriogénesis somática temprana de Pinus edulis**” y solicitamos su colaboración para el ajuste de su resumen, al formato establecido para REDBIO 2004, ya que el mismo será publicado tanto en formato duro como electrónico.

Para mayor facilidad le sugerimos tomar nota en los siguientes puntos:

1. Favor sírvase de ver el formato adjunto, publicado desde noviembre del año 2003 en el sitio Web:  
(<http://www.redbio.org/rdominicana/redbio2004rd/redbio2004/resumenes.htm>)
2. Favor remitirnos de nuevo su resumen en los idiomas inglés y español.
3. Le recordamos que el número de ponencias orales en REDBIO 2004 es limitado. Por lo que muchos de los trabajos se presentaran como posters.
4. Cualquier duda sobre la redacción del resumen, favor remitirse a la normas de la ASA (American Society of Agronomy), en su página Web: <http://www.asa-cssa-sssa.org>

Esperando recibir su pronta respuesta y rectificándole nuestro deseo de verlo en REDBIO 2004.

Comité de Resúmenes  
REDBIO 2004

## **“Identificación de genes que se expresan diferencialmente durante la embriogénesis somática temprana de *Pinus radiata*”**

Felipe Aquea y Patricio Arce-Johnson.

Laboratorio de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. E-mail: [parce@genes.bio.puc.cl](mailto:parce@genes.bio.puc.cl)

Embriogénesis somática (ES) es la técnica de propagación más utilizada para la multiplicación de especies vegetales. En nuestro laboratorio se ha implementado esta técnica en *Pinus radiata*, especie vegetal de mayor importancia comercial para Chile. Es necesario optimizar este proceso debido a que los rendimientos de producción de embriones no son adecuados para su uso comercial a gran escala. Los avances en la optimización de la ES han sido limitados, debido en parte a que se desconocen los eventos moleculares y los genes que participan durante el crecimiento y desarrollo del embrión. Es por esto que hemos implementado la técnica de cDNA-AFLP en *Pinus radiata* como una herramienta que nos permita identificar genes que se expresen durante la ES. Inicialmente estudiamos la ES temprana debido que durante esta etapa ocurren los cambios críticos para la morfogénesis de la planta, se establece el eje apical-basal y comienzan a formarse los principales tipos celulares y tejidos. Analizamos 3 estadios de desarrollo: Proembrión (15 días en 3mg/l 2,4-D y 1,5 mg/l BAP), proembrión tardío (15 días en 15 mg/l ABA) y embrión temprano o polar (30 días en 15 mg/l ABA), utilizando como control tejido indiferenciado no embriogénico (15 días a 3mg/l 2,4-D y 1,5 mg/l BAP). En un análisis preliminar hemos amplificado más de 2.000 Fragmentos Derivados de Transcritos (FDT), de los cuales hemos seleccionado 30 FDT que se acumulan en estados específicos del desarrollo o que presentan un patrón de expresión diferencial durante los estadios de desarrollo analizados. La identificación de genes activos durante el desarrollo embrionario junto con su perfil transcripcional (inducción o represión) pueden ser utilizados para inferir la activación o represión de vías metabólicas o bioquímicas, y de esta manera desarrollar estrategias que permitan optimizar este proceso.

Agradecimientos: Proyecto FONDEF Genómica de virus en vides G0251001  
Programa formación para la innovación agraria, FLA

## **“Identification of genes differentially expressed during early somatic embryogenesis in *Pinus radiata*”**

Felipe Aquea y Patricio Arce-Johnson.

Laboratorio de Genética Molecular y Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas. Pontificia Universidad Católica de Chile. E-mail: [parce@genes.bio.puc.cl](mailto:parce@genes.bio.puc.cl)

Somatic embryogenesis (SE) is an efficient technique for propagation of plants. We have implemented this method of propagation in *Pinus radiata*. It is necessary to improve this technique because the number of mature embryos produced in culture is not enough for large scale propagation. Methods for improving SE have been limited, due to little knowledge of molecular events and genes that participate during the growth and development of somatic embryos. For this reason we have implemented cDNA-AFLP in *Pinus radiata* for to identify genes expressed during SE. Initially we have studied the early SE, because these stages are crucial for successful completion of the overall process. We have analyzed 3 stages of somatic embryo development: Proembryo (15 days in 3mg/l 2,4-D and 1,5 mg/l BAP), late proembryo (15 days in 15 mg/l ABA) and early embryo (30 days in 15 mg/l ABA). Like a control we have used no-embryogenic tissue (15 days in 3mg/l 2,4-D and 1,5 mg/l BAP). In a preliminary study we have amplified almost 2000 transcript-derived fragments (TDF), of which we have chosen 30 TDF that expressed in specific stage or with differential pattern during the stages analyzed. The identification of genes activated during the SE can be used like a tool for improving this process.

Acknowledgements: Proyecto FONDEF Genómica de virus en vides G0251001  
Programa formación para la innovación agraria, FIA