**Resumen**

Las pérdidas causadas por podredumbres durante la post-cosecha de frutos cítricos suelen suponer entre un 5 y un 10 % de la producción, siendo *Penicillium digitatum* el principal hongo patógeno, responsable de hasta el 80 % de las pérdidas causadas por podredumbres en frutos almacenados a temperatura ambiente. A pesar de la importancia económica de este patógeno nuestro conocimiento sobre los mecanismos de patogenicidad/ virulencia son muy escasos, en contraste con el avance experimentado en los últimos años en el conocimiento de las respuestas de defensa del fruto a la infección por este patógeno. Así, en el grupo de Fisiología y Biotecnología Postcosecha del IATA se está trabajando en la caracterización a nivel bioquímico y molecular de las respuestas de los frutos cítricos frente a la infección por *P. digitatum* y en el proceso de inducción de resistencia en frutos cítricos frente a la infección.

Por este motivo en esta Tesis se han desarrollado un conjunto de herramientas esenciales para poder abordar la caracterización funcional de genes involucrados en virulencia/patogenicidad: transformación de *P. digitatum* mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, utilización de la proteína verde fluorescente como marcadora, metodología para la obtención de mutantes de deleción de genes específicos, incluyendo mutantes nulos Δ*ku80*, vectores para silenciamiento génico mediante RNAi y la construcción de una genoteca de DNA genómico de *P. digitatum*. Se ha secuenciado y analizado el factor de transcripción PacC, que controla la expresión de un grupo de genes regulados por el pH ambiental. En *P. digitatum* se produce una acidificación del medio para adaptarlo al pH óptimo de su arsenal de enzimas. Se han obtenido mutantes de expresión constitutiva de PacC que presentan una disminución la capacidad infectiva en un 20 %. Mediante el empleo de técnicas de alto rendimiento se ha construido una genoteca substractiva de cDNA para obtener fragmentos de genes de *P. digitatum* que se inducen durante la infección de frutos de naranja y se ha analizado la expresión génica de los mismos y se ha elaborado una macromatriz conteniendo más de 1330 clones de la genoteca. El grupo de genes con mayor representación en la genoteca y con altos valores de inducción, corresponde a genes que codifican cinco proteasas diferentes. Además, en la genoteca substractiva también hay una alta representación de genes que codifican enzimas de degradación de la pared celular, y otras proteínas implicadas en glucólisis, respuesta a estrés o detoxificación. La ya demostrada importancia de las enzimas de degradación de la pared celular en la virulencia de hongos fitopatógenos, su abundancia y niveles de inducción en la macromatriz nos llevaron a estudiar más en profundidad algunos de estos genes (dos poligalacturonasas y una pectin liasa). Para comprobar su implicación en el proceso de infección se secuenciaron y se obtuvieron mutantes de *P. digitatum* en los que se eliminó el gen. La disminución de la virulencia de estos mutantes sobre frutos de naranja con respecto a la cepa silvestre fue de aproximadamente un 25 %. Del conjunto de genes relacionados con el metabolismo redox se seleccionó por su patrón de expresión el gen *ris1*, que codifica una naftaleno dioxigenasa posiblemente implicada en la detoxificación de compuestos aromáticos. A diferencia de los mutantes nulos en los genes de las poligalacturonasas o de la pectin liasa, los mutantes nulos Δ*ris1* no presentaron ninguna alteración en su capacidad patogénica.