

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
DIRECCIÓN DE POSTGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES



CARACTERIZACIÓN DE GENES DESHIDRINA EN *Eucalyptus globulus* CUYA EXPRESIÓN ES INDUCIDA POR LA ACLIMATACIÓN A BAJA TEMPERATURA

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Forestales

Profesor Guía: Sofia Valenzuela Aguila
Dpto. de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales
Universidad de Concepción

MARTA ALEJANDRA FERNÁNDEZ REYES
CONCEPCIÓN-CHILE
2011

RESUMEN

Eucalyptus globulus es una especie importante para la producción de pulpa de madera en Chile, sin embargo presenta una gran sensibilidad a temperaturas de congelamiento. Durante los últimos años, muchos estudios han enfocado sus esfuerzos en dilucidar los mecanismos que regulan la respuesta de las plantas a baja temperatura, mediante el análisis de la expresión génica. En el presente trabajo se estudia la expresión de genes deshidrina durante el proceso de aclimatación a baja temperatura y la diferencia en la expresión entre genotipos que, por datos operacionales, presentan diferencias contrastantes en la sobrevivencia y daño luego de la exposición a heladas.

El aislamiento y la caracterización de las secuencias codificantes y no codificantes de tres genes deshidrina, que fueron identificadas en dos bibliotecas de expresión de plantas de *E. globulus* expuestas a baja temperatura, permitió comparar la expresión de estos genes durante la aclimatación con el tipo de deshidrina y la presencia de elementos reguladores de respuesta a estrés abiótico y hormonas en sus regiones promotoras, entregando información importante acerca de las posibles rutas de señalización y regulación de estos genes.

Las tres deshidrinas presentaron una mayor acumulación de transcritos tanto en hoja como en tallo de plantas de *E. globulus* aclimatadas a baja temperatura, comparado con los niveles de expresión en estado no aclimatado. La mayor acumulación de transcritos se observó luego de la exposición de las plantas a heladas nocturnas de -2°C . Además, uno de los genotipos clasificado como resistentes al congelamiento presentó mayor nivel de transcritos en estado aclimatado comparado con los genotipos sensibles al congelamiento, luego de la exposición a heladas nocturnas. Estos resultados sustentan el supuesto de que las proteínas deshidrinas tendrían un rol importante tanto en la aclimatación como en la tolerancia al congelamiento, lo cual ha sido previamente reportado en especies herbáceas y leñosas.

Mediante el análisis de Western Blot, utilizando un anticuerpo deshidrina, fue posible identificar cinco péptidos, los cuales incrementaron su expresión luego de la aclimatación a baja temperatura, tanto en hoja como en tallo. Sin embargo no fue posible establecer una relación entre los tres genes deshidrina, de acuerdo al tamaño del péptido putativo predicho de la

secuencia codificante y los cinco péptidos observados en el análisis de Western Blot, puesto que es posible que estas deshidrinas sufran glicosilaciones o fosforilaciones, que podrían modificar su migración relativa en el gel de poliacrilamida. Para demostrar este hecho es necesario comprobar la ocurrencia de modificaciones postraduccionales.

Al someter a las plantas de *E. globulus* a cambios en el fotoperiodo y temperatura de manera conjunta e independiente y a un ensayo de déficit hídrico, se pudo observar que las tres deshidrinas tendrían una regulación por baja temperatura más que por el cambio en el fotoperiodo. Las dos deshidrinas del tipo SK_n estarían siendo reguladas por baja temperatura y déficit hídrico y la deshidrina del tipo KS por baja temperatura.

