



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Forestales - Programa de Doctorado

**CLONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LA ENZIMA
FERULATO 5-HIDROXILASA (F5H) DE *Eucalyptus globulus***

**(CLONING AND CHARACTERIZATION OF THE ENZYME
FERULATE 5-HYDROXYLASE FROM *Eucalyptus globulus*)**

JOSÉ RENÁN GARCÍA MORENO
CONCEPCIÓN-CHILE
2011

Profesor Guía: Sofía Valenzuela Águila
Dpto. de Silvicultura,
Facultad de Ciencias Forestales
Universidad de Concepción

RESUMEN

Coniferaldehído 5-hidroxilasa (F5H) y shikimato *p*-coumarílico 3-hidroxilasa (C3'H), dos de las tres enzimas P450 que participan en la biosíntesis de monolignoles, fueron secuenciadas en *Eucalyptus globulus* y reportadas al GenBank con los números de acceso FJ969838 y HM015285, respectivamente. Estas enzimas catalizan en forma secuencial, las meta hidroxilaciones en la vía de fenilpropanos, la C3'H en el carbono 3 y la F5H en el carbono 5. Pertenecen a su vez a las subfamilias CYP98 (C3'H) y la CYP84 (F5H), no obstante entre ellas comparten sólo un 49% de identidad a nivel de secuencia de ADN y un 33% a nivel de proteínas. La abundancia de transcritos de *EglF5H* fue estudiada en dos grupos de genotipos seleccionados considerados como de alto o bajo rendimiento pulpable, y los resultados mostraron una alta abundancia en los genotipos con mayor rendimiento pulpable. Ambas enzimas fueron clonadas y caracterizadas *in vitro*, con diferentes substratos. Los substratos preferentes para F5H y C3'H fueron coniferaldehído y ester *p*-coumarílico de ácido shikimico, respectivamente. La funcionalidad de la enzima F5H de *E. globulus* (*EglF5H*) *in planta*, se analizó usando el modelo de plantas de *Arabidopsis thaliana fah1-2* deficientes de F5H. Se obtuvieron líneas transgénicas que restituyeron completamente la función de la F5H. Se observó que *EglF5H* es clave en la biosíntesis que conduce a la deposición de unidades siringilo, logrando mejorar la relación siringilo/guayacilo (S/G). Este resultado, es especialmente importante debido que *E. globulus* es usado principalmente como materia prima en procesos que requieren remoción de lignina. La caracterización tanto *in vitro* como *in planta*, contribuirán a desarrollar estrategias de ingeniería genética o en programas de mejoramiento.