



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas
Programa de Magíster en Bioquímica y Bioinformática



**Caracterización de los Genes de la Familia Fitoeno
Sintasa en *Brassica napus* L.**

PABLO DAVID CÁRDENAS INOSTROZA
CONCEPCIÓN-CHILE
2011

Profesor Guía: Dra. María Laura Federico
Centro de Genómica Nutricional Agroacuícola

Profesor Patrocinante: Dra. Marta Bunster B.
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

RESUMEN

Los carotenoides son pigmentos orgánicos producidos en plantas y algunas bacterias y hongos. En humanos y animales son obtenidos desde la dieta y cumplen importantes roles fisiológicos como precursores de vitaminas y antioxidantes. En la industria son usados como colorantes y suplementos que son incorporados en alimentos y cosméticos, por lo que existe un gran interés en fuentes naturales de estos pigmentos. En plantas, el primer paso clave de la ruta de biosíntesis de carotenoides es catalizado por la enzima fitoeno sintasa (PSY). En *Arabidopsis thaliana*, esta enzima es codificada por un gen de copia única, sin embargo, la existencia de familias de genes *PSY* se ha documentado en varias especies cultivables como arroz, maíz y tomate, entre otras. En estas especies, la subfuncionalización de los parálogos de *PSY* proporciona un mecanismo que permite la acumulación de altos niveles de carotenoides en los tejidos no fotosintéticos (flores y frutos por ejemplo), sin efectos fisiológicos negativos para los demás tejidos de la planta. En este estudio, nuestro objetivo fue determinar si existía una familia de genes *PSY* en *Brassica napus* (AACC) y la especie diploides con los genomas parentales *Brassica rapa* (AA) y *Brassica oleracea* (CC). Basados en información de sintenia entre los genomas estrechamente relacionados de *Arabidopsis thaliana*, *B. rapa* y *B. oleracea* se identificaron 6 regiones putativas en *B. napus* que contendrían genes *PSY*, correspondiendo 3 a cada genoma parental. Utilizando una estrategia de PCR solapante, hemos clonado e identificado 3 parálogos en *B. rapa*, 3 en *B. oleracea* y 6 en *B. napus*. La existencia de esta familia de genes *PSY* se confirmó mediante DNA-SSCP y análisis de Southern-blot. Posteriormente, se analizó su perfil de expresión mediante RT-PCR detectándose la expresión de al menos un parálogo, aunque a diferentes niveles, en todos los tejidos estudiados. Para determinar la existencia de subfuncionalización entre los distintos parálogos, se realizó un análisis de cDNA-SSCP, el cual reveló que en las tres especies de *Brassica* estudiadas, al menos uno de los parálogos de *PSY* se expresa preferentemente en pétalos. Los antecedentes generados en este trabajo sugieren la existencia de una vía de síntesis de carotenoides específica de los cromoplastos en *Brassica*. El conocimiento de este estudio ayudará en el futuro desarrollo de cultivares transgénicos y/o convencionales enriquecidos en carotenoides y confirma a *Brassica* como un modelo adecuado para el estudio de la subfuncionalización de genes parálogos en poliploides.