

## EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA A ESTRÉS HÍDRICO EN FRUTALES DE HUESO (*Prunus* spp)

Bielsa B.<sup>1</sup>, Leida C.<sup>2</sup>, Rubio-Cabetas M.J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Fruticultura Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CIITA). Carretera de Montañana, 930. 50059, Zaragoza

<sup>2</sup> Departamento de Fruticultura Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Carretera Moncada a Náquera Km 4.5. 46113 Moncada, Valencia

**Palabras clave:** conductancia estomática, dehídrina, factor de transcripción, potencial hídrico, Real Time-PCR.

### Resumen

Los frutales de hueso (*Prunus* spp.) difieren en cuanto a su comportamiento frente a determinados estreses medioambientales. En este trabajo se ha estudiado la respuesta a la sequía en dos genotipos utilizados como portainjertos en distintas condiciones de suelos. El híbrido almendro x melocotonero (*P. amygdalus* x *P. persica*) 'Garnem' y su descendiente el trihíbrido 'P.2175' x 'Garnem'-3 (*P. cerasifera* x [*P. amygdalus* x *P. persica*]). Ambos se sometieron a un periodo de déficit hídrico durante un mes, seguido de un periodo de recuperación en umbráculo. El tratamiento de estrés se realizó manteniendo las plantas a un contenido de humedad del sustrato del 35%. Se tomaron datos fisiológicos a los 0, 10 y 15d de estrés y a los 10d y 15d de recuperación. Igualmente se estudio la expresión de dos genes en dos tejidos diferentes, que codifican para proteínas relacionadas con el ABA y el estrés abiótico, una dehídrina y una proteína de unión a zinc respectivamente. Los parámetros fisiológicos de conductancia estomática y de potencial hídrico fueron monitorizados y correlacionados con la expresión génica. Se observó que existe una relación inversa entre los parámetros fisiológicos y moleculares. La relación de ambos parámetros y su implicación en la mejora de la tolerancia a este estrés será discutida.

### INTRODUCCIÓN

Los patrones mejor adaptados a las condiciones edafoclimáticas mediterráneas han sido los híbridos almendro x melocotonero ('GF-677') y los nuevos híbridos GxN 'Garnem' y 'Felinem' resistentes a nematodos. Posteriormente, un nuevo material interespecifico ha sido creado involucrando nuevos genotipos de *Prunus* con el fin de introducir tolerancias a caracteres abióticos. La escasez de agua hace que las plantas reaccionen activando una serie de mecanismos que permiten su supervivencia durante un cierto tiempo, entre estos mecanismos destaca el cierre estomático, que permite reducir las pérdidas de agua manteniendo la turgencia celular. La inducción del cierre estomático puede deberse tanto a señales hidráulicas como hormonales. Los cambios inducidos se deben a cambios en la expresión génica de varios genes, entre ellos las dehídrinas (Basset et al , 2009) y varios factores de transcripción relacionados con el ácido abscísico (ABA) (Leida et al , 2012). El objetivo de este trabajo fue el estudio de la respuesta fisiológica al estrés hídrico de dos genotipos de patrones *Prunus* y el estudio de la expresión de genes en respuesta a la sequía.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Plantas del híbrido almendro x melocotonero 'Garnem' y el trihíbrido 'P.2175' x 'Garnem'-3 fueron sometidas a un periodo de déficit hídrico de 15 días. El experimento se realizó durante el mes de Julio en macetas en umbráculo. El tratamiento de estrés se realizó manteniendo las



plantas a un contenido de humedad del sustrato del 35%, añadiendo regularmente el agua perdida por transpiración medida gravimétricamente. Se tomaron datos tanto de conductancia estomática con un podómetro, como de potencial hídrico con una cámara Scholander a lo largo del ensayo y posteriormente, durante el periodo de recuperación. La expresión génica mediante PCR a tiempo real se realizó en las plantas estresadas tanto en tejido de floema como de raíz a los 0, 10, 15 d de estrés y a los 10 y 15 d de recuperación. A partir de 2,5 µg de ARN libre de ADNasas, se obtuvo la primera cadena de ADNc utilizando el kit Superscript III 1<sup>st</sup> Strand Synthesis (Invitrogen) para qPCR y siguiendo el protocolo del fabricante. El análisis génico se llevó a cabo con el ABI 7900 (Applied Biosystems) y el kit PerfeCTA SYBR Green Supermix, ROX (Quanta Biosciences), utilizándose como control interno el gen actina. Los genes analizados fueron una dehidrina (ppa005514m) y el dedo de zinc A20/AN1 (ppa012373m).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La expresión de ambos genes tanto de la dehidrina como del factor de transcripción tipo dedo de Zinc es mayor en el tejido de raíz que en el tejido de floema. La mayor expresión en ambos casos es mayor en el momento de máximo estrés a los 15 días de tratamiento, observándose un descenso en el periodo de recuperación. La expresión del factor de transcripción dedo de zinc A20/AN1 es similar en ambos tejidos en el genotipo 'Garnem', mientras que una mayor expresión se observó en el trihíbrido. Las mayores diferencias se observaron en el gen de la dehidrina, ya que en el tejido de raíz, la expresión fue mayor para ambos genotipos en el momento de máximo estrés, disminuyendo en el periodo de recuperación. Estas diferencias son notables a los 15d de tratamiento, evidenciando la estrecha relación de esta proteína en la respuesta al estrés hídrico (Basset et al , 2009) Las menores diferencias observadas en el factor de transcripción, entre el periodo de estrés y de recuperación se explicaría por el papel de éste en el momento de inducción del estrés y no tanto en la respuesta directa al estrés. Ya que el metabolismo del ABA estaría implicado en diferentes estreses de la planta (Leida et al., 2012) Se observó que existe una relación inversa entre los parámetros fisiológicos y moleculares. Así, a los 10d los valores de conductancia y potencial hídrico en el 'P2175' x 'Garnem'-3 fueron mayores que en 'Garnem', siendo la expresión de la dehidrina menor que en 'Garnem'. Mientras que a los 15 d, la conductancia del trihíbrido fue menor que en 'Garnem' pero su expresión mayor. Indicando que el genotipo trihíbrido muestra los síntomas del estrés a los 15 días y no a los 10d y puede que sea más tolerante a la sequía.

## REFERENCIAS

- Bassett, C.L., Wisniewski, M. E., Artlip, I.S., Richard, G., Norelli, J.L., Farrell, R.E Jr. 2009. Comparative expression and transcript initiation of three peach dehydrin genes. *Planta*, 230: 107-118.
- Leida, C., Conesa A., Llácer, G., Badenes, M.L., Ríos, G. 2012. Histone modifications and expression of *DAM6* gene in peach are modulated during bud dormancy release in a cultivar-dependent manner. *New Phytologist*, 193: 67-80.