

IMPLICACIÓN DE DIFERENTES GENES REGULADORES Y FUNCIONALES EN RESPUESTA A ESTRÉS HÍDRICO EN DIFERENTES HÍBRIDOS DE *PRUNUS*

B. Bielsa¹, C. Leida², M.J. Rubio-Cabetas¹

¹ Unidad de Fruticultura. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA), Carretera de Montañana, 930, 50059, Zaragoza.

² Fondazione Edmund Mach (FEM) Research and Innovation Centre Molecular Biology of Fruit Crops. Via E. Mach, 1-38010 San Michele a/A (TN), Italy

Palabras clave: Dehidrina, sequía, factor de transcripción, portainjertos, proteínas LEA, *Prunus*, cambio climático

Resumen

Los recursos hídricos del suelo se verán reducidos como consecuencia del cambio climático, por tanto se hace indispensable entender la respuesta fisiológica de las raíces a condiciones de sequía. Los genotipos ‘Garnem’ almendro x melocotonero (*P. amygdalus* x *P. persica*) y sus descendientes, el trihíbrido ‘P.2175’ x ‘Garnem’-3 y el trihíbrido ‘P.2175’ x ‘Garnem’-9 (*P. cerasifera* x [*P. amygdalus* x *P. persica*]) se sometieron a un periodo de déficit hídrico. Se analizó conductancia estomática y potencial hídrico foliar, así como la expresión de cuatro genes mediante RT-qPCR relacionados con la síntesis de ABA. Los factores de transcripción dedo de zinc A20/AN1, y bZIP mostraron diferencias de expresión con los genes funcionales: una proteína LEA y una dehidrina, tanto en el tratamiento como en la recuperación, sugiriendo un papel regulador en la respuesta al estrés en los distintos genotipos estudiados.

INTRODUCCIÓN

El calentamiento global conlleva una disminución de las precipitaciones de entre un 10 y un 35%, la cual se traduce en una reducción del 25% de los recursos hídricos presentes en el suelo. Ante estos nuevos escenarios se necesita estudiar como los arboles perciben la sequía y reaccionan activando diferentes mecanismos de evitación y tolerancia. En la inducción de estos mecanismos están involucrados los factores de transcripción (FTs), que regulan la expresión de genes funcionales, de la familia de proteínas LEA (Allagulova et al., 2003; Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki, 2007). Los híbridos almendro x melocotonero (GxN) están muy adaptados a las condiciones edafoclimáticas mediterráneas. Estos híbridos han servido para la creación de nuevos genotipos de *Prunus*, en los cuales es necesario seleccionar para la tolerancia a estreses abióticos. El objetivo de este trabajo fue el estudio de los perfiles de expresión de 4 genes relacionados con la ruta de biosíntesis del ABA: dos TFs y dos proteínas LEA en tres genotipos de *Prunus* sometidos a estrés hídrico. Los resultados obtenidos servirán en un futuro para la selección de material tolerante a sequía dentro del programa de mejora de patrones para frutales de hueso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Plantas del híbrido almendro x melocotonero ‘Garnem’ (*P. amygdalus* x *P. persica*) y sus descendientes, los trihíbridos ‘P.2175’ x ‘Garnem’-3, ‘P.2175’ x ‘Garnem’-9 (*P. cerasifera* x [*P. amygdalus* x *P. persica*]), fueron sometidas a un periodo de déficit hídrico de 15 días con un contenido de humedad del sustrato del 35%. Se registraron datos de conductancia estomática y de potencial hídrico foliar a lo largo del tratamiento y el periodo de recuperación de 15 días. Se muestreó tejido de raíz y floema en plantas estresadas a los 0, 10, 15 días de tratamiento y a los

10 y 15 días de recuperación. A partir de 2,5 µg de ARN, se obtuvo el ADNc correspondiente mediante transcripción inversa. La RT-qPCR se llevó a cabo con el ABI 7900 (Applied Biosystems) y el kit PerfeCTA SYBR Green Supermix, ROX (Quanta Biosciences), utilizándose como gen de referencia la actina de *Prunus persica*. Los genes analizados fueron un dedo de zinc A20/AN1 (*ppa012373m*) y un factor de transcripción bZIP (*ppa013046m*), además de una dehidrina (*ppa005514m*) y una proteína LEA (*ppa008651m*). La expresión relativa fue medida mediante el procedimiento de curva estándar relativa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En condiciones de sequía, los niveles de expresión en los 4 genes analizados fueron mayores en tejido de raíz que en el del floema, que podría ser debido a la mayor acumulación de ABA en la raíz que en brotes (Sharp, 2002). Se observó una activación a los 15 días de tratamiento y una represión en el periodo de recuperación lo que indicaría que estos genes juegan un papel importante en la respuesta al estrés hídrico (Vij y Tyagi, 2006; Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki, 2007). ‘Garnem’ y el trihíbrido-3 presentaron unos valores menores que el trihíbrido-9 en los dos FTs y en la proteína LEA, a los 15 días de estrés. Aunque la expresión de la dehidrina en el trihíbrido-3 fue mayor que en ‘Garnem’ pero menor que en el trihíbrido-9, el cual mostró los valores de expresión más altos para los 4 genes estudiados. Los bajos valores de los genes bZIP y A20/AN1 durante el tratamiento con respecto a la dehidrina y la proteína LEA, indicaría que la inducción de estos genes se produce en las primeras fases de la respuesta al estrés, desencadenando la expresión de la dehidrina y la proteína LEA en una fase posterior adaptativa (Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki, 2007). Estos resultados junto con los valores de potencial hídrico foliar indicarían que los 2 trihíbridos presentan una mayor tolerancia a la sequía que su parental ‘Garnem’, y mayor en el trihíbrido-9 que en el trihíbrido-3.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto RTA2011-00089 del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) y el Gobierno de Aragón (grupo A12).

REFERENCIAS

- Allagulova, C.R., Gimalov, F.R., Shakirova, F.M., Vakhitov, V.A. 2003. The plant dehydrins: structure and putative functions. *Biochemistry* 68:945-51.
- Sharp, R.E. 2002. Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress. *Plant Cell Environ.* 25:211-222.
- Shinozaki, K. y Yamaguchi-Shinozaki, K. 2007 Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J. Exp. Bot.* 58:221-7. doi: 10.1093/jxb/erl164
- Vij, S. y Tyagi, A.K. 2006. Genome-wide analysis of the stress associated protein (SAP) gene family containing A20/AN1 zinc-finger(s) in rice and their phylogenetic relationship with *Arabidopsis*. *Mol. Genet. Genomics* 276:565-75. doi: 10.1007/s00438-006-0165-1