
**ANÁLISIS TRANSCRIPCIONAL DE LOS GENES ASOCIADOS AL
METABOLISMO DE POLIAMINAS DURANTE EL DESARROLLO
REPRODUCTIVO DE *Vitis vinífera* var. Carménère.**

**NURI ELENA CABRERA GONZÁLEZ
DOCTORADO EN CIENCIAS MENCIÓN INGENIERÍA GENÉTICA VEGETAL**

RESUMEN

La vid (*Vitis vinifera* L.) es un cultivo de gran importancia económica para Chile. Su cultivo tiene dos usos principales, como producto de consumo en fresco y como materia prima para la elaboración de vino, siendo la producción de frutos de calidad un requisito esencial para ambos propósitos. El desarrollo reproductivo de la vid abarca dos periodos de crecimiento separados por una fase de dormancia invernal: la inducción floral en la primera temporada y el desarrollo floral/frutal en la temporada siguiente. Algunos cultivares de vid, relevantes para la industria vitivinícola tales como Merlot y Carménère, manifiestan atributos particulares durante este proceso que se traducen en una gran tendencia a la abscisión de frutos y a la ocurrencia de partenocarpia que genera frutos no semillados de baja calidad (*millerandage*). Estudios realizados en la variedad Merlot han asociado este fenómeno con alteraciones en el metabolismo de poliaminas (PAs), compuestos implicados en diversos procesos celulares entre los que se incluye al crecimiento y desarrollo vegetal y en la respuesta de las plantas a condiciones de estrés. En base a lo anterior, el objetivo central de esta tesis es la identificación de los genes que codifican para las enzimas del metabolismo de PAs en *Vitis vinifera* y establecer sus perfiles de expresión tanto durante el desarrollo normal de los órganos reproductivos como en la ocurrencia del *millerandage* en el cultivar Carménère. Los resultados obtenidos en esta tesis han establecido que con excepción de aquellos genes que codifican para arginina descarboxilasa (ADC) y arginasa (ARGI) que son de copia única, las enzimas del metabolismo de PAs son codificadas por familias multigénicas. La expresión de los genes identificados fue analizada mediante qRT-PCR durante las diferentes etapas del desarrollo reproductivo, estableciéndose que tanto durante la inducción floral en la primera temporada como en el desarrollo de flores y frutos en la segunda temporada, ellos son diferencialmente expresados a través de los distintos estadios fenológicos y son coherentes con la acumulación de PAs descritas para cada estadio. La actividad transcripcional de los genes anteriormente referidos fue comparada entre

bayas semilladas y bayas partenocárpicas. Dos aproximaciones metodológicas fueron empleadas para tal efecto: a) análisis transcriptómico global mediante hibridación de un macroarreglo conteniendo 4803 ESTs representativos de genes expresados en el desarrollo reproductivo de vides y b) qRT-PCR de los genes asociados al metabolismo de PAs identificados en el genoma de la vid. En términos generales, los resultados obtenidos mediante ambas metodologías fueron concordantes y coherentes con la concentración de PAs detectadas en ambos tipos de frutos. Adicionalmente el análisis mediante qRT-PCR indicó que el perfil de expresión de tales genes es similar entre los cultivares Merlot y Carménère, variedades que poseen similar tendencia al *millerandage*.

Los resultados obtenidos sugieren que las variaciones detectadas en el contenido de PAs tanto durante el desarrollo reproductivo normal como durante la ocurrencia del *millerandage*, son generadas por la expresión diferencial de los genes asociados al metabolismo de tales compuestos.

ABSTRACT

Grapevine (*Vitis vinifera* L.) is a crop of great economic importance for Chile. Its cultivation has two main uses, for fresh consumption and for wine production, being fruit quality an essential requirement for both purposes. The reproductive development of grapevine occurs throughout two growing seasons separated by a winter dormancy period: floral induction in the first season and the flower and fruit development in the next season. Some grapevine cultivars, relevant for the wine industry such as Merlot and Carménère, show particular attributes during this process as a great tendency to the fruitlets abscission and to the occurrence of parthenocarpy, phenomena that induces the development of poor quality seedless fruits ("millerandage"). Studies in the Merlot variety have associated this phenomenon with alterations in the polyamines (PAs) metabolism. These compounds are involved in diverse cellular processes including plant growth and development, and the plant response to stress conditions. According to that, the main objective of this thesis is to identify genes encoding for enzymes of PAs metabolism in *Vitis vinifera* and to establish their expression profiles during both the normal and the parthenocarpic fruit development, in the Carménère cultivar. The results obtained in this work established that the genes encoding for the enzymes related to PAs metabolism are composed by multigenic families, being the exceptions those coding for arginine decarboxylase (ADC) and arginase (ARGI), that correspond to single-copy genes. The expression profiles of the identified genes were analysed by qRT-PCR throughout the different stages of reproductive development. It was established that during floral induction (in the first growing season) and flower and fruit development (in the second growing season), these genes are differentially expressed in a stage-specific way, consistently with the accumulation of PAs described for each phenological stage. The transcriptional activities of the genes related to the PAs metabolism were compared between normal and parthenocarpic fruits. Two methodological approaches were employed for this purpose: a) global transcriptomic analysis by hybridization of a macroarray containing 4803 ESTs representing genes expressed during the grapevine reproductive development and b) qRT-PCR of genes associated with PAs metabolism previously identified in the grapevine genome. In general terms, the results obtained by both methods are in good agreement and are coherent with the PAs concentration detected in both types of fruits. Additionally, qRT-PCR analysis

indicated that the expression profile of such genes is similar between Merlot and Carménère, both varieties with similar tendency to the "millerandage".

These results suggest that the variations detected in PAs content, during both normal and parthenocarpic reproductive development, are generated by the differential expression of genes associated with metabolism of these compounds.