

**CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE GENES INVOLUCRADOS EN EL
TRANSPORTE DE ZINC EN VIDES Y SU RELACIÓN CON EL DESARROLLO
DE FRUTOS EN *Vitis vinifera* Cv. Carménère**

**FELIPE IGNACIO GAINZA CORTES
DOCTOR EN CIENCIAS MENCIÓN INGENIERÍA GENÉTICA VEGETAL**

RESUMEN

El zinc es uno de los microelementos fundamentales para el desarrollo normal de las especies vegetales. En vides la deficiencia de zinc se manifiesta fundamentalmente a nivel de desarrollo reproductivo afectando la fructificación y el desarrollo normal de frutos, traducándose en la producción de racimos con bayas semilladas de tamaño normal y bayas sin semilla de pequeño tamaño.

Debido a que el zinc no puede difundir pasivamente a través de las membranas celulares, éste debe ser transportado dentro de compartimentos intracelulares para todos los procesos biológicos donde es requerido, otorgando especial relevancia a proteínas transportadoras involucradas en la captación y distribución de este metal. Importantes miembros de las familias génicas que codifican para los transportadores tipo ZIP (*"Zinc regulated transporters, Iron regulated transporter like Protein"*), tipo CDF (*"Cation Diffuser Facilitator"*) y tipo HMA (*"Heavy Metal ATPase"*), han sido identificados y caracterizados en varias especies de plantas. Sin embargo, a la fecha no han sido caracterizados los genes que codifican para tales transportadores en vides. El análisis de una librería de expresión construida a partir de bayas de *Vitis vinifera* Cv. Carménère, ha permitido identificar, aislar y caracterizar los ADNc que codifican para transportadores putativos, denominados VvZIP3, VvMTP1 y VvHMA5.4. Las secuencias proteicas deducidas indican una fuerte homología con miembros de cada una de las respectivas familias de transportadores de *Arabidopsis thaliana* y otras especies vegetales. Por otra parte, el gen que codifica a VvZIP3 complementa el crecimiento defectuoso de la mutante de levadura ZHY3 (deficiente en la asimilación de zinc), en tanto que la proteína de fusión VvZIP3:GFP se localiza en la membrana plasmática, sugiriendo que esta proteína actuaría como un transportador de captación de zinc. El análisis de los perfiles transcripcionales de los genes *VvZIP3*, *VvMTP1* y *VvHMA5.4* mostró que todos

ellos están principalmente expresados en tejido reproductivo. Específicamente, el gen *VvZIP3* es principalmente expresado en flores, en tanto que *VvMTP1* en bayas inmaduras y *VvHMA5.4* en tallos e inflorescencias. Además, *VvZIP3* y *VvMTP1* se encuentran reprimidos en frutos partenocárpicos no semillados, en tanto que *VvHMA5.4* no registra diferencia en expresión entre frutos normales y frutos partenocárpicos. El perfil de expresión de *VvZIP3* se correlaciona con los patrones de acumulación de zinc, detectándose un mayor contenido de este elemento en bayas normales al estadio de “pre envero” y un menor contenido en bayas partenocarpicas. Los resultados sugieren que los transportadores *VvZIP3*, *VvMTP1* y *VvHMA5.4* estarían asociados a la captación y distribución de zinc y otros metales durante el desarrollo reproductivo lo que puede significar que la disponibilidad de zinc tendría relevancia para el desarrollo normal de las bayas en *Vitis vinifera*.

ABSTRACT

Zinc deficiency is one of the most widespread mineral nutritional problems that affect normal development in plants. Because Zn cannot passively diffuse across cell membranes, it must be transported into intracellular compartments for all biological processes where Zn is required. Several members of the Zinc regulated transporters, Ironregulated transporter like Protein (ZIP), Cation Diffuser Facilitator (CDF) and Heavy Metal ATPase's (HMA) gene families have been characterized in plants, and have shown to be involved in metal uptake and transport. However, these transporters have not been characterized in grapevine. Unravel their function may explain important symptoms of zinc deficiency in grapevines as abscission and parthenocarpy and the production of clusters with seeded and unseeded berries.

Have identified and characterized genes for putative metal transporters from an expression library of berries of *Vitis vinifera* Cv. Carménère, named *VvZIP3*, *VvMTP1* and *VvHMA5.4*. Their predicted protein sequences show strong similarity with several members of each family of transporters from *Arabidopsis thaliana* and other plant species. Moreover, *VvZIP3* gene complements the defective growth of a yeast Zn uptake mutant ZHY3, deficient in zinc uptake. The encoded protein is localized in the plasma membrane, indicating that *VvZIP3* corresponds to an uptake Zn transporter. *VvZIP3*, *VvMTP1* and *VvHMA5.4* are mainly expressed in reproductive tissue – *VvZIP3* in *VvZIP3* in developing flowers, *VvMTP1* in immature berries and *VvHMA5.4* in stems and little clusters. These expression profiles correlate with the zinc accumulation patterns in these organs. On the other hand, the low expression of *VvZIP3* and *VvMTP1* in parthenocarpic berries shows a straight relationship with the low level of Zn accumulation in this tissue when compared to normal seeded berries. The above results suggest that *VvZIP3*, *VvMTP1* and *VvHMA5.4* would be associated in zinc and metal uptake and distribution during the reproductive development which may mean that the availability of zinc would be relevant for normal berry development of *Vitis vinifera*.