

---

ESTUDIO DE LOS GENES Y LAS PROTEINAS ASR EN LA  
TOLERANCIA A ESTRES ABIOTICO EN CEREALES

JORGE LUIS PÉREZ DÍAZ  
DOCTOR EN CIENCIAS MENCIÓN INGENIERÍA GENÉTICA VEGETAL

RESUMEN

Las plantas han desarrollado la capacidad de ejecutar un gran espectro de respuestas frente a condiciones de estrés abiótico, incluyendo cambios fisiológicos, bioquímicos y moleculares. Pese a la existencia de diversos ejemplos de cambios en el perfil de expresión génica en respuesta a distintos tipos de estrés, las posibles funciones de muchos genes que se inducen bajo estas condiciones son desconocidas. Entre estos están los genes que codifican a las llamadas proteínas ASR, los cuales son inducidos por la fitohormona ácido abscísico (ABA), estrés y maduración. Las proteínas vegetales ASR se han convertido en un interesante grupo de proteínas con funciones aparentes en la protección de estructuras celulares y en la regulación de la expresión génica. Ambas respuestas son importantes para las plantas frente a estrés abiótico e, independientemente de las posibles funciones propuestas por algunos estudios, se conoce muy poco acerca de su papel en cereales. La presente tesis se enfocó en determinar el papel de las proteínas ASR en la regulación de la expresión de genes en cereales y en examinar su posible función en la tolerancia a estrés abiótico. Para lograr este objetivo, se han propuesto los siguientes objetivos: (1) caracterizar la regulación de la transcripción de los genes *ASR* por ABA, estrés abiótico y su expresión en diferentes tejidos en plantas de arroz y cebada; (2) identificar posibles genes blanco de la proteína *HvASR* en plantas de arroz que sobre-expresen el gen *HvASR*; (3) evaluar los efectos de sobre-expresión del gen *HvASR* en la tolerancia de plantas transgénicas de arroz a estrés hídrico y a bajas temperaturas. Aunque la transcripción de la mayoría de los genes *OsASR* fue regulada de manera transitoria por ABA exógeno, los genes presentaron una respuesta diferencial bajo condiciones de estrés por frío y sequía, así como una expresión específica en ciertos tejidos y órganos. Análisis de los elementos regulatorios en los promotores de los genes *OsASR* reveló la presencia de elementos *cis* de respuesta a hormonas, azúcar y estrés. Además, la expresión del gen reportero *GUS* dirigida por los promotores de *OsASR1* y *OsASR5*, indicó una expresión preferente en raíz, antera y tejido escutelar de la semilla.

Estos resultados aportan nuevas pistas acerca de su posible papel de estas proteínas durante el desarrollo y en respuesta a estrés. Por otro lado, aunque la sobreexpresión de *HvASR5* en arroz no provocó fenotipos evidentes de tolerancia a estrés por frío y sequía en las condiciones evaluadas, un análisis 12 transcripcional global mostró que la expresión de un importante número de genes relacionados con desarrollo reproductivo y con respuesta a estrés fue afectada en las plantas transgénicas.

## ABSTRACT

Plants have developed the ability to execute a wide spectrum of responses in order to cope with environmental adverse conditions, including physiological, biochemical and molecular changes. Despite several described examples of changes in the expression of genes in response to different stresses, the role of many genes that are induced under stress remain unknown. Among these, we can find the genes encoding for the so-called ASR proteins. The group of plant ASR proteins, whose genes are induced by the phytohormone abscisic acid (ABA), stress and ripening, have emerged as an interesting group of proteins with apparent roles in protecting cellular structures as well as putative regulators of gene expression. Both are important responses of plants to environmental stresses and, regardless of the proposed functions in some studies, little is known about their role in cereals. This thesis focused on determining the role of an ASR protein in the regulation of gene expression in cereals and on examining its putative role in conferring tolerance to abiotic stresses. To achieve this main objective, the following objectives were proposed: (1) to characterize the transcriptional regulation of the *ASR* genes by ABA, abiotic stresses and their expression in different tissues in rice and barley plants; (2) to identify possible target genes of *HvASR* in rice plants that over-express the *HvASR* gene; (3) to evaluate the effects of over-expressing *HvASR* on the tolerance to water deficit and low temperatures in transgenic rice plants. Although transcription of most *OsASRs* is transiently enhanced by ABA treatment, the genes presented a differential response under cold and drought stress as well as specific expression in certain tissues and organs. Analysis of their regulatory promoter elements uncovered hormonal, sugar and stress responsive *cis*-elements. In addition, *GUS* reporter gene expression driven by the promoters of *OsASR1* and *OsASR5* indicated specific expression in root, anther and seed scutellar tissue. These results provide new clues about the possible role of ASRs in plant development and stress responses. On the other hand, although the overexpression of *HvASR5* in rice did not show evident phenotypes of enhanced tolerance to cold stress and drought under the tested conditions, a global transcription analysis revealed that the expression of a large number of genes related to reproductive development and stress response was affected in the transgenic plants.

mención ingeniería genética