

GENERACIÓN DE TOLERANCIA A DÉFICIT HÍDRICO MEDIANTE LA REGULACIÓN INDUCIDA DE LA SÍNTESIS DE TOCOFEROLES EN TABACO (*Nicotiana tabacum* L.)

**ANALIA ANTONELLA ESPINOZA CONTRERAS
DOCTORADO EN CIENCIAS MENCIÓN INGENIERÍA GENÉTICA VEGETAL**

RESUMEN

Los tocoferoles o vitamina E, son compuestos orgánicos esenciales que ayudan a proteger las membranas contra el daño oxidativo provocado por diversas condiciones de estrés ambientales. Diversos estudios han demostrado que las deficiencias de tocoferol pueden causar alteraciones en; la germinación, el transporte de fotoasimilados, un retardo del crecimiento y las respuestas propias frente al estrés abiótico. Con esto se puede inferir que los tocoferoles pueden influir en los procesos fisiológicos de las plantas. En esta tesis se ha utilizado la información genética y metabólica disponible para aumentar la acumulación de α -tocoferol en tabaco bajo condiciones de estrés, utilizando promotores inducidos por estrés y el gen VTE2.1 que codifica para la enzima homogentísico fitol transferasa (HPT) la cual cataliza el paso de prenilación en la síntesis de tocoferol. Plantas de tabaco transgénicas que expresan VTE2.1 de *Solanum chilense* bajo el control de tres promotores inducibles por estrés, no caracterizados y aislados de *Arabidopsis*, mostraron mayores niveles de α -tocoferol cuando se exponen a condiciones de sequía en comparación con el tipo silvestre. La mayor acumulación de α -tocoferol se correlaciona con un mejor estado hídrico, rendimiento fotosintético y la disminución de daño por estrés oxidativo evidenciada por menor lipoperoxidación y un retraso de la senescencia foliar. Nuestros resultados sugieren que VTE2.1 puede utilizarse para aumentar el contenido de vitamina E y para disminuir la sensibilidad a las condiciones ambientales estresantes. Los tres promotores inducidos por estrés utilizados en este trabajo han demostrado ser útil para nuevas estrategias biotecnológicas que mejoran la respuesta de las plantas al estrés abiótico.

ABSTRACT

Tocopherols (vitamin E) are essential organic compounds that help protecting photosynthetic membranes against oxidative damage triggered by most environmental stresses. Tocopherol deficiency has been shown to cause alterations in germination, transport of photoassimilates, retarded growth and to affect normal responses to abiotic stresses, suggesting that tocopherols may influence a number of physiological processes in plants. A metabolic engineering approach was followed to enhance α -tocopherol accumulation under stress conditions in tobacco using stress-inducible promoters and the gene VTE2.1 encoding for the enzyme homogentisate phytyltransferase (HPT) which catalyzes the prenylation step in tocopherol synthesis. Transgenic tobacco plants expressing VTE2.1 from *Solanum chilense* under the control of three uncharacterized stress-inducible promoters isolated from *Arabidopsis* showed increased levels of α -tocopherol when exposed to drought conditions compared to the wild type. The accumulation of α -tocopherol correlated with improved water content and photosynthetic performance and decreased oxidative stress damage as evidenced by less lipid peroxidation and delayed leaf senescence. Our results suggest that VTE2.1 can be used to increase vitamin E content and to diminish sensitivity to environmental stresses. The three stress-induced promoters used in this work proved to be useful for new biotechnological approaches to improve plant responses to abiotic stress.