

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	II
ÍNDICE	III
ÍNDICE DE TABLAS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	XI
1 MARCO TEÓRICO	1
1.1 <i>Eucalyptus</i>	1
1.2 Importancia del <i>Eucalyptus</i> en Chile	2
1.3 Aclimatación a baja temperatura	3
1.4 Tecnologías de secuenciación	4
1.5 Transcriptomas y estrategias de ensamble	5
1.6 Análisis de expresión diferencial <i>in silico</i>	7
2 HIPÓTESIS	9
3 OBJETIVOS	9
3.1 Objetivo General	9
3.2 Objetivos Específicos	9
4 METODOLOGÍA	10
4.1 Construcción de la bibliotecas cDNA y secuenciación Ion Proton	10
4.2 Diseño del pipeline bioinformático	11
4.3 Limpieza y preprocesamiento de datos	12
4.4 Mapeo de transcriptoma guiado por referencia	13
4.5 Generación de la tabla con el número de lecturas mapeadas	14
4.6 Análisis de expresión diferencial	15
4.6.1 Filtro	16

4.6.2	Normalización	16
4.6.3	Exploración de los datos	16
4.6.4	Estimación de la dispersión	16
4.6.5	Expresión diferencial	16
4.7	Anotación funcional de genes	17
4.8	Generación de contigs del transcriptoma de <i>E. nitens</i>	17
5	RESULTADOS	18
5.1	Análisis de calidad de las bibliotecas	18
5.2	Mapeo de lecturas al genoma de <i>E. grandis</i>	22
5.3	Conteo de lecturas mapeadas a genes	23
5.4	Análisis de expresión diferencial	25
5.4.1	Visualización y exploración de los datos	25
5.4.2	Identificación de genes expresados diferencialmente	30
5.5	Análisis de ontología genética	33
5.6	Generación de contigs del transcriptoma	39
6	DISCUSIÓN	40
7	CONCLUSIÓN	45
	REFERENCIAS	50
	ANEXOS	51
A	Anexo I: Control de calidad	51
A.1	Bibliotecas No aclimatadas (NA)	51
A.2	Bibliotecas Aclimatadas antes de la helada (AAH)	54
A.3	Bibliotecas Aclimatadas después de la helada (ADH)	57
A.4	Bibliotecas Desaclimatadas (DA)	60
B	Anexo II: Expresión diferencial	63
B.1	Top 20 genes diferencialmente expresados (NA/AAH)	63
B.2	Top 20 genes diferencialmente expresados (NA/ADH)	64
B.3	Top 20 genes diferencialmente expresados (NA/DA)	65

B.4	Top 20 genes diferencialmente expresados (AAH/ADH)	66
B.5	Top 20 genes diferencialmente expresados (AAH/DA)	67
B.6	Top 20 genes diferencialmente expresados (ADH/DA)	68
C	Anexo III: Ontología genética	69
C.1	No aclimatado v/s Aclimatado antes de la helada (NA/AAH)	69
C.1.1	Proceso biológico	69
C.1.2	Componente celular	71
C.1.3	Función molecular	71
C.2	No aclimatado v/s Aclimatado después de la helada (NA/ADH)	72
C.2.1	Proceso biológico	72
C.2.2	Componente celular	77
C.2.3	Función molecular	78
C.3	No aclimatado v/s Desaclimatado (NA/DA)	79
C.3.1	Proceso biológico	79
C.3.2	Componente celular	84
C.3.3	Función molecular	84
C.4	Aclimatado antes de la helada v/s Aclimatado después de la helada (AAH/ADH)	85
C.4.1	Proceso biológico	85
C.4.2	Componente celular	88
C.4.3	Función molecular	88
C.5	Aclimatado antes de la helada v/s Desaclimatado (AAH/DA)	89
C.5.1	Proceso biológico	89
C.5.2	Función molecular	89
C.6	Aclimatado después de la helada v/s Desaclimatado (ADH/DA)	90
C.6.1	Proceso biológico	90
C.6.2	Componente celular	93
C.6.3	Función molecular	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Inventario de plantaciones forestales	2
Tabla 2	Especificaciones Ion Proton	4
Tabla 3	Control de calidad bibliotecas No aclimatadas	18
Tabla 4	Control de calidad bibliotecas Aclimatadas antes de la helada	19
Tabla 5	Control de calidad bibliotecas Aclimatadas después de la helada	20
Tabla 6	Control de calidad bibliotecas Desaclimatadas	21
Tabla 7	Resumen del mapeo	22
Tabla 8	Resumen de la cantidad de lecturas mapeadas a genes	23
Tabla 9	Bibliotecas usadas para el análisis de expresión diferencial	29
Tabla 10	Resumen de la cantidad de genes expresados diferencialmente	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Especies representativas del género <i>Eucalyptus</i>	1
Figura 2	Ensamble de transcriptoma basado en referencia	6
Figura 3	Pipeline bioinformático para análisis RNA-Seq	8
Figura 4	Tratamiento de aclimatación y desaclimatación de las plantas	10
Figura 5	Diseño metodología	12
Figura 6	Modos de HTSeq	15
Figura 7	Diagrama de Venn de genes con lecturas mapeadas	24
Figura 8	Gráfico MDS NA-AAH	25
Figura 9	Gráfico MDS NA-ADH	26
Figura 10	Gráfico MDS NA-DA	27
Figura 11	Gráfico MDS AAH-ADH	27
Figura 12	Gráfico MDS AAH-DA	28
Figura 13	Gráfico MDS ADH-DA	29
Figura 14	Gráficos MA	31
Figura 15	Heatmap top 20 genes para cada comparación	32
Figura 16	Ontología genética NA-AAH	34
Figura 17	Ontología genética NA-ADH	35
Figura 18	Ontología genética NA-DA	36
Figura 19	Ontología genética AAH-ADH	37
Figura 20	Ontología genética AAH-DA	37
Figura 21	Ontología genética ADH-DA	38
Figura 22	Árbol filogenético	41
Figura 23	Mapeo incorrecto de un <i>read</i>	42
Figura 24	Control de calidad NA1	51
Figura 25	Control de calidad NA2	52
Figura 26	Control de calidad NA3	53
Figura 27	Control de calidad AAH1	54
Figura 28	Control de calidad AAH2	55
Figura 29	Control de calidad AAH3	56
Figura 30	Control de calidad ADH1	57

Figura 31	Control de calidad ADH2	58
Figura 32	Control de calidad ADH3	59
Figura 33	Control de calidad DA1	60
Figura 34	Control de calidad DA2	61
Figura 35	Control de calidad DA3	62