

---

**ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DIFERENCIAL in silico DE GENES  
INVOLUCRADOS EN LA ACLIMATACIÓN A BAJA TEMPERATURA  
EN *Eucalyptus nitens* MEDIANTE mRNA-Seq.**

**JOSÉ LUIS GAETE LOYOLA  
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA**

**RESUMEN**

En Chile, según información del INFOR, en el año 2011 la superficie plantada de *Eucalyptus* spp. fue de 740.360 hectáreas, de las cuáles un 70,7% corresponde a *Eucalyptus globulus* y un 29,3% a *Eucalyptus nitens*. La importancia de este género se debe a su amplia adaptabilidad, rápido crecimiento, excelente madera y gran producción de biomasa. Sin embargo, la gran sensibilidad de *E. globulus* a las heladas restringe geográficamente la extensión de sus plantaciones, causando pérdidas económicas para los productores al considerar los años de crecimiento perdidos, el costo de reforestación y la pérdida de calidad de la madera. Por su parte, *E. nitens* es mucho más resistente a temperaturas congelantes, lo que lo convierte en una alternativa para plantar en rangos de ambiente donde *E. globulus* no puede ser plantado satisfactoriamente.

Estudios revelan que la resistencia a baja temperatura de *Eucalyptus* spp. Posee un control a nivel genómico, lo que permite desarrollar mejoramiento genético en esta especie. El objetivo de este estudio fue identificar genes involucrados en el proceso de aclimatación a baja temperatura en *E. nitens*, mediante el análisis bioinformático de bibliotecas mRNA-Seq, ya que esta especie presenta una mayor tolerancia a temperaturas de congelamiento.

Se realizaron bibliotecas de expresión mediante secuenciación del tipo NGS (Next-Generation Sequencing) de plantas de *E. nitens* sometidas a cuatro tratamientos de aclimatación, simulando la variación estacional anual, en condiciones de laboratorio (NA: No aclimatado, AAH: Aclimatado antes de la helada, ADH: Aclimatado después de la helada y DA: Desaclimatado).

Los análisis bioinformáticos involucraron el pre-procesamiento y limpieza de los datos obtenidos por secuenciación Ion Torrent, mapeo de las lecturas utilizando la información del genoma de referencia de *Eucalyptus grandis*, seguido de un análisis de expresión diferencial in silico en donde se compararon condiciones en pares (NA/AAH, NA/ADH, NA/DA, AAH/ADH, AAH/DA y ADH/DA), para identificar

y caracterizar los genes involucrados en la aclimatación a baja temperatura en *E. nitens*. Luego se realizó un análisis de ontología genética de los genes diferencialmente expresados con el fin de conocer el significado biológico de estos, en base al proceso biológico, componente celular y función molecular asociada.

El rango de genes diferencialmente expresados que fueron identificados, varió desde 126 a 590 en cada una de las comparaciones de tratamientos, donde la mayor parte de los genes de acuerdo a la clasificación por ontología genética, corresponden a genes que participan en procesos metabólicos, respuesta a estímulos, respuesta a estrés, procesos biosintéticos, procesos celulares, actividad catalítica, asociados al citoplasma, cloroplastos, membrana plasmática, pared celular y región extracelular.

## ABSTRACT

In Chile, according to INFOR, in 2011 the total forest area of *Eucalyptus* spp. was 740.360 hectares, of them 70,7% are *Eucalyptus globulus* and 29,3% *Eucalyptus nitens*. The importance of this genus is based on its wide adaptability, rapid growth and excellent wood quality.

However, the main planted species, *E. globulus* is sensitive to freezing temperatures limiting the extension of its plantations to areas without frequent frost or areas with only episodic occurrence of temperatures below zero. In these areas this species is replaced by *E. nitens*, which exhibits a higher frost tolerance.

Nevertheless, studies have shown that the frost tolerance in *Eucalyptus* spp. is controlled by genetic factors. The knowledge of genes and molecular processes involved in the coldtolerance will allow to improve breeding programs, focusing in the selection of frost tolerance genotypes and hybridization. The objective of this study was to identify genes involved in the molecular and cellular process of cold acclimation in *E. nitens*.

Expression libraries were made by NGS (Next-Generation Sequencing) from plants of *E. nitens* subjected to four treatments acclimation, simulating the annual seasonal variation in controlled conditions (NA: Non-acclimated, AAH: Acclimated before frost, ADH: Acclimated after frost and DA: De-acclimated). The bioinformatics analysis included: 1) data preprocessing of the reads generated by Ion Torrent sequencing, 2) reads mapping to the reference genome of *Eucalyptus grandis*, 3) the generation of a table of reads counts followed by the analysis of differential gene expression in silico, where conditions were compared in pairs (NA/AAH, NA/ADH, NA/DA, AAH/ADH, AAH/DA and ADH/DA), to identify genes involved in acclimation to process in *E. nitens* by the differential expressed genes identified. The numbers of differentially expressed genes were from 126 to 590 in each treatment comparisons, where most of genes according to Gene Ontology (GO), were associated to metabolic processes, response to stimulus, response to stress, biosynthetic processes, cellular processes, catalytic activity; and associated with the cytoplasm, chloroplasts, plasma membrane, cell wall and extracellular region.