

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
Especies del género <i>Prunus</i> y su importancia económica	10
Suelos con drenaje restringido en Chile y el problema de la asfixia radical para el desarrollo de frutales de carozo	10
¿Por qué estudiar los portainjertos? Efectos del portainjerto en la productividad, el desarrollo y la tolerancia de los frutales de carozo al estrés por hipoxia.....	12
Bases moleculares de la respuesta de las plantas al estrés por asfixia y factores de transcripción WRKY	13
OBJETIVOS	19
Objetivo general	19
Objetivos específicos	19
HIPÓTESIS	19
MATERIALES Y MÉTODOS	20
Identificación de genes del tipo WRKY en el genoma de <i>P. persica</i>	20
Análisis filogenético.....	21
Selección de genes candidatos y diseño de partidores	22
Estudios de expresión génica mediante PCR cuantitativa en tiempo real de genes candidatos del tipo WRKY	23
Identificación de motivos aminoacídicos en las proteínas del tipo WRKY de <i>P. persica</i>	24
Organización de Exones e Intrones en la familia WRKY de <i>P. persica</i>	24
RESULTADOS	25
Identificación de factores de transcripción de la familia WRKY en el genoma de <i>P. persica</i>	25
Análisis filogenético de los miembros de la familia WRKY de <i>P. persica</i>	30
Motivos y dominios aminoacídicos en proteínas WRKY de <i>P. persica</i>	35
Organización de Exones e Intrones en la familia WRKY de <i>P. persica</i>	40
Selección de Genes Candidatos y diseño de partidores.....	42

Análisis de los patrones de expresión relativa de genes candidatos del tipo <i>WRKY</i> en raíces de portainjertos de <i>Prunus sp.</i> con respuesta contrastante al estrés por hipoxia.....	43
Expresión de genes <i>WRKY</i> en raíces de plantas de M2624 sometidas a diferentes estreses abióticos	47
DISCUSION	49
Identificación y distribución de genes <i>WRKY</i> en el genoma de <i>P. persica</i>	49
Factores de transcripción truncados	50
Filogenia de los factores de transcripción del tipo <i>WRKY</i> de <i>P. persica</i>	50
Estructura de los genes <i>WRKY</i> de <i>P. persica</i> : Exones e intrones	51
Importancia del p-value y p-distance.....	52
Genes del tipo <i>WRKY</i> son regulados diferencialmente por la hipoxia radical en portainjertos de <i>Prunus sp.</i>	54
Genes del tipo <i>WRKY</i> podrían tener un rol en la respuesta de especies de <i>Prunus</i> a los estreses abióticos	55
Los datos generados en esta tesis han sido valiosos para la identificación y clonación de los genes <i>PpWRKY14</i> y <i>PpWRKY37</i> desde el portainjertos M2624 y su posterior caracterización funcional	56
CONCLUSIONES.....	58
BIBLIOGRAFIA	59
ANEXOS	64
Anexo 1: Diseño de primers.....	64
Anexo 2: Ubicación <i>WRKYs</i> en genoma <i>P. persica</i>	75
Anexo 3: Árbol filogenético <i>Arabidopsis thaliana</i> vs <i>Cucumis sativus</i>	76
Anexo 4: Estudios derivados de esta tesis: Localización nuclear de <i>PpWRKY14</i> y <i>PpWRKY37</i>	77
Anexo 5: Presentación en Congreso: VIII Reunión de Biología Vegetal, Pucón, Chile. 2-5 de Diciembre de 2013.....	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Partidores “Forward” y “Reverse” para cada uno de los 14 genes candidatos seleccionados	22
Tabla 2. Familia de genes del tipo WRKY en <i>P. persica</i>	27, 28
Tabla 3. Distribución de las proteínas WRKY por grupo y subgrupo en <i>P. persica</i>	34
Tabla 4. Comparación del número de genes WRKY entre diferentes	35
Tabla 5. Comparación del porcentaje de identidad y similitud entre cinco proteínas WRKYs de <i>P. persica</i> y AtWRKY22.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes tipos de suelos en 6 ^{ta} región de Chile	11
Figura 2. Dominio WRKY y motivos Zinc-finger en proteínas WRKY.....	15
Figura 3. Inducción FT <i>WRKY</i> en plantas de <i>Arabidopsis</i> sometidas a estrés por hipoxia mediante inundación	16
Figura 4. Posicionamiento para cada factor de transcripción WRKY en genoma <i>P. persica</i> dentro de los diferentes putativos cromosomas	29
Figura 5. Distribución genes WRKY, según subgrupo, en cada uno de los cromosomas de <i>P. persica</i>	30
Figura 6. Árbol filogenético sin raíz representando las relaciones entre las proteínas WRKY de <i>Arabidopsis thaliana</i> y <i>P. persica</i>	32
Figura 7. Árbol filogenético sin raíz representando relaciones entre dominios WRKY de <i>P. persica</i>	33
Figura 8. Relaciones filogenéticas entre factores de transcripción WRKY de <i>P. persica</i> para los diferentes (sub) grupos	37
Figura 9. Alineamiento de los dominios WRKY y motivos Zinc-finger para <i>P. persica</i> en diferentes grupos	39
Figura 10. Organización estructural de intrones y exones presentes en familia <i>WRKY</i> de <i>P. persica</i>	41
Figura 11. Perfiles de expresión de genes <i>WRKY</i> en raíces de plantas de M2624 y F12 en hipoxia	46
Figura 12. Perfiles de expresión de genes <i>WRKY</i> en raíces de plantas de M2624 y F12 en hipoxia.....	47
Figura 13. Expresión de genes que codifican para putativos factores de transcripción <i>WRKY</i> en diferentes estreses abióticos	49
Figura 14. Estructura de un análisis realizado con MEME suite	59
Figura 15. Comparativa del único motivo aminoacídico presenciado en PpWRKY36	60
Figura Anexo 4. Alineamiento múltiple de las secuencias de las putativas proteínas PcxPm WRKY14-like y PcxPm WRKY37-like y sus proteínas homologas de <i>P. persica</i> (WRKY14 y WRKY37), y de <i>A. thaliana</i> , (AtWRKY22 y AtWRKY29)	59