



Patricio Arce  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

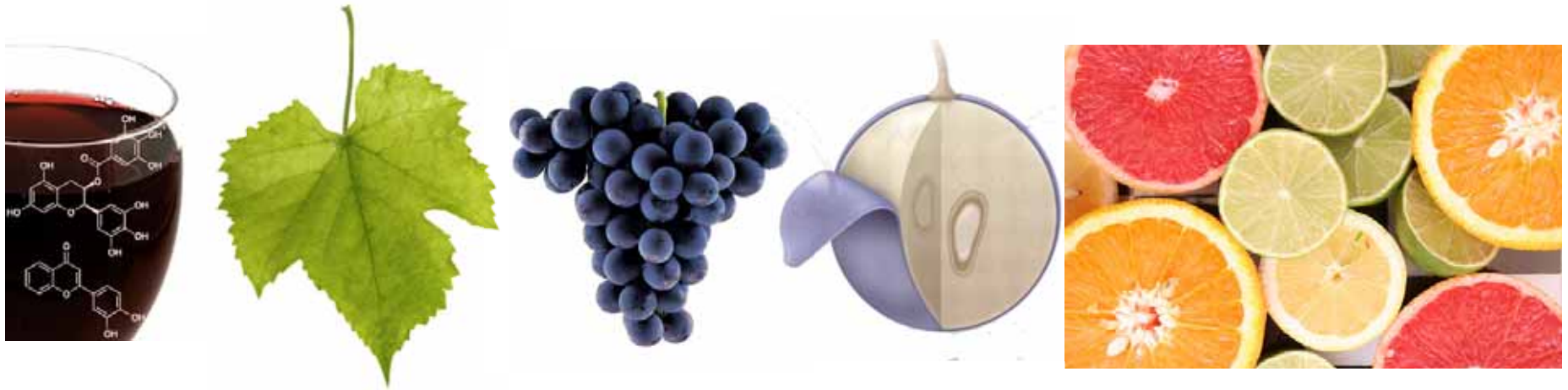


---

# Estrés Biótico y Abiótico en Plantas

Academia Chilena de Ciencias Agronómicas

---



# LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

## Resistencia a enfermedades virales



Modificación del contenido de azúcar en fruto

Modificación del color, azúcar, astringencia y propiedades para la salud



Regulación génica del metabolismo de flavonoides y resveratrol (Phenylpropanoid pathway)

Tolerancia a infecciones por hongos en vides

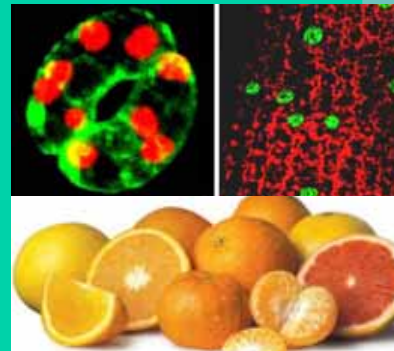


*Powdery mildew*

Selección de vides sin semillas



Resistencia a salinidad y sequía



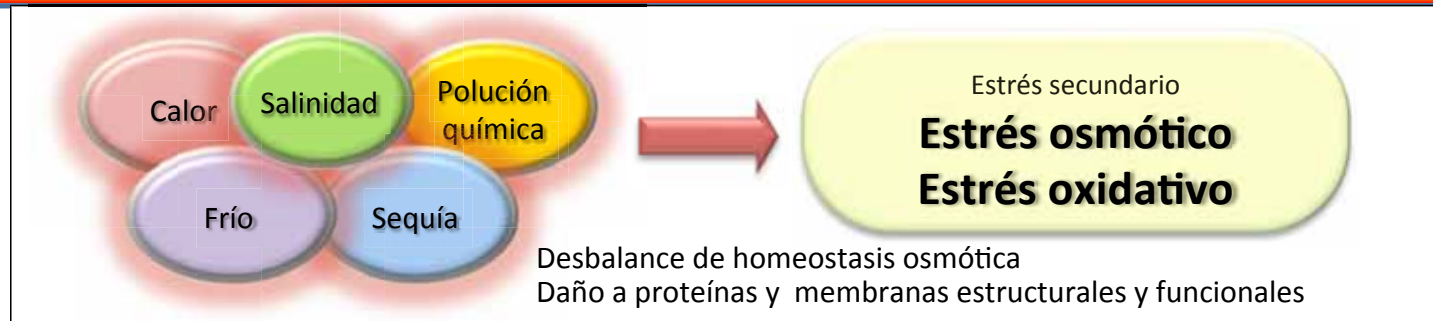
Biocombustible a partir de microalgas



# Generación de Portainjertos de Cítricos Tolerantes a la Salinidad



# Respuesta a Estrés Abiótico a Nivel Molecular



1. Percepción y transducción de señales

Osmosensores (AtHK1), enzimas que liberan fosfolípidos (PLD) y mensajeros secundarios (Ca<sup>2+</sup>), proteínas-kinasas dependientes de calcio (CDPKs)

2. Control transcripcional

Factores de transcripción (e.g. CBF/DREB, ABF, bZIP; MYC/MYB)

3. Mecanismos de respuesta a estrés

Funciones chaperonas (Hsp, LEA, COR)

Activación de genes de respuesta

Movimiento de agua y iones (acuaporinas, transportadores de iones)

Detoxificación (SOD, PX)

Osmoprotección (prolina, glicinabetaina, azúcares polialcoholes)

Restablecimiento de homeostasis celular, protección de membranas y de proteínas funcionales y estructurales

Tolerancia o susceptibilidad al estrés

Wang *et al.* (2003)

# Problema: Suelos Altamente Salinos



Copiapó

Montepatria

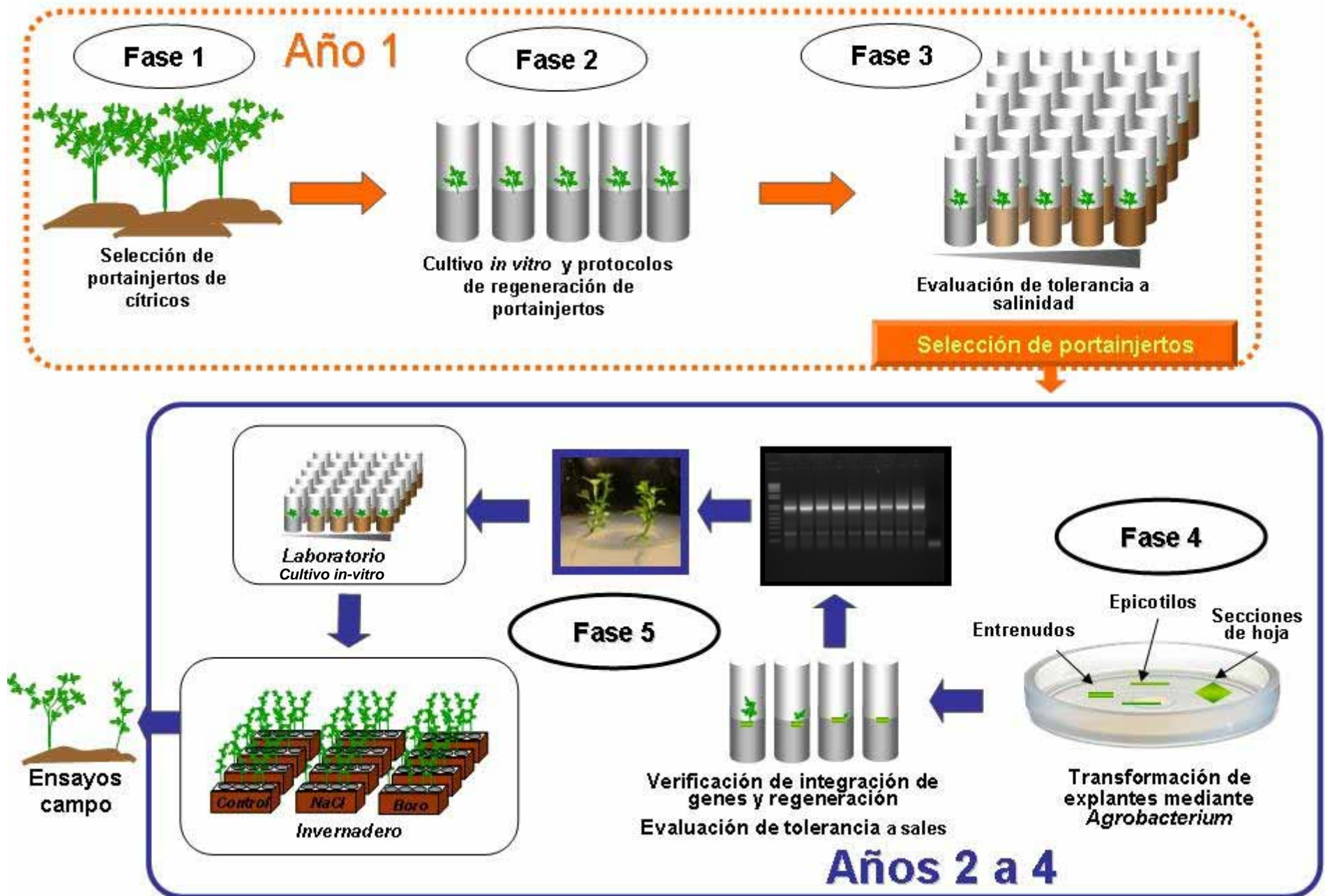


Clementinas

Valles	Conductividad eléctrica (uS/cm)	Cloro (mg/l)	Boro (mg/l)
Río Copiapó	1.000-2.200	40-160	1,0-2,2
Río Huasco	500-1.200	20-50	1,0-1,1
Río Limarí	200-600	15-80	0,4-0,7

General Direction of Water, 2004.

# Etapas de trabajo

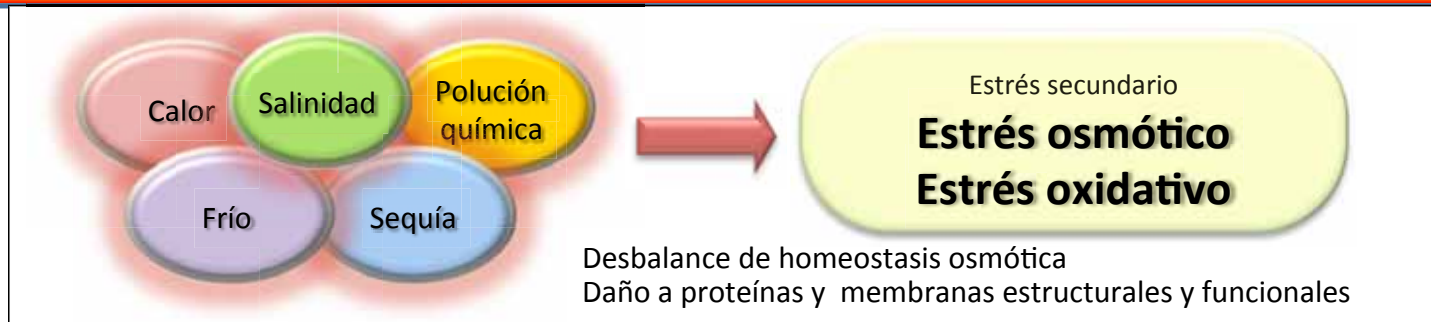


# Portainjertos a Transformar

Portainjerto	Especie
C-35 citrange	Naranja, Mandarino, Pomelo, Lima
Carrizo citrange	Naranja, Mandarino, Pomelo, Lima
Rubidoux	Naranja, Pomelo
<i>Citrus macrophylla</i>	Limonero, Lima



# Respuesta a Estrés Abiótico a Nivel Molecular



1. Percepción y transducción de señales

Osmosensores (AtHK1), enzimas que liberan fosfolípidos (PLD) y mensajeros secundarios (Ca<sup>2+</sup>), proteínas-kinasas dependientes de calcio (CDPKs)

2. Control transcripcional

Factores de transcripción (e.g. CBF/DREB, ABF, bZIP; MYC/MYB)

3. Mecanismos de respuesta a estrés



Restablecimiento de homeostasis celular, protección de membranas y de proteínas funcionales y estructurales

**Tolerancia o Susceptibilidad al Estrés**



# Transformación de Cítricos

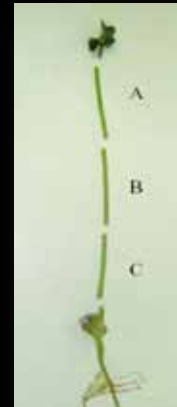
## Preparación explante



Esterilización  
semilla



Germinación  
3-5 semanas



Epicotilos



Incubación



## Transformación y selección brotes transgénicos



Cocultivo oscuridad  
72h



Selección oscuridad  
2-3 semanas

Trasposos cada 15 días

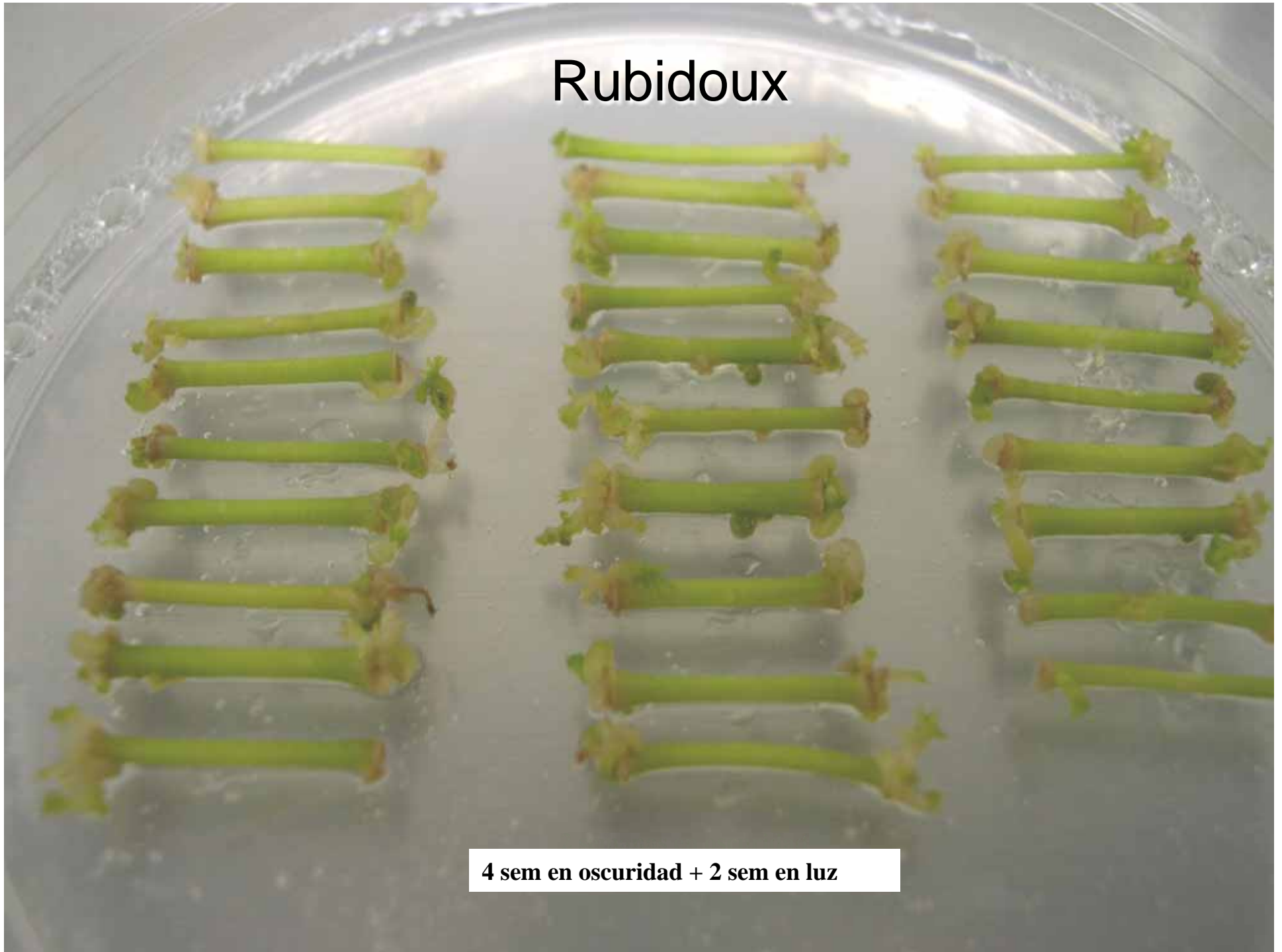


PCR

Selección en luz  
8-12 semanas

Trasposos cada 15 días

# Rubidoux

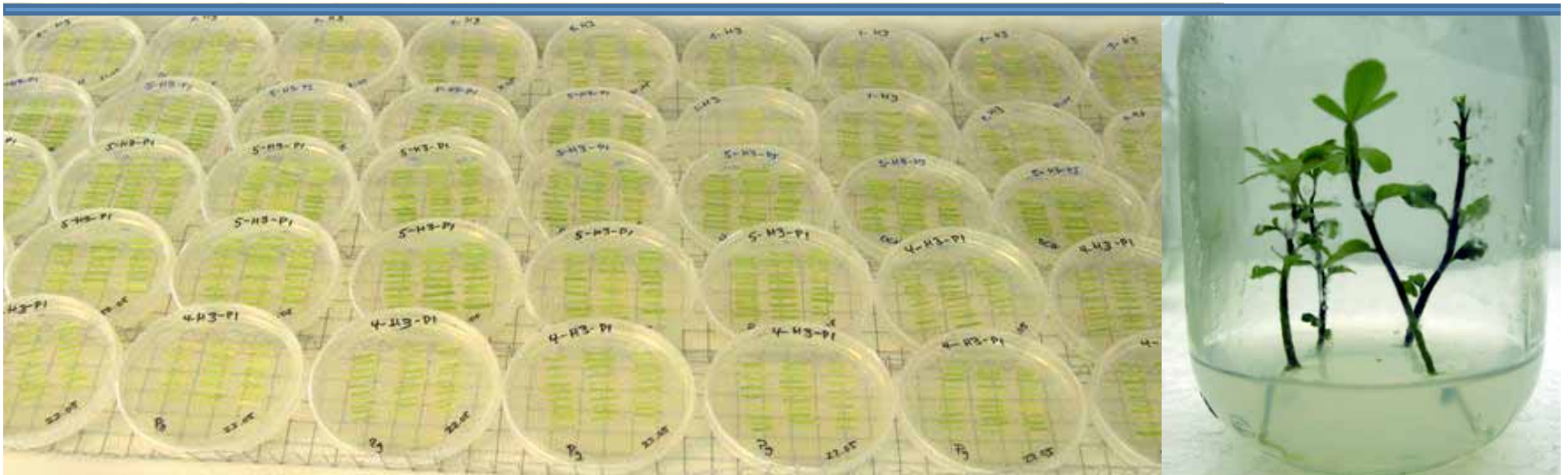


**4 sem en oscuridad + 2 sem en luz**



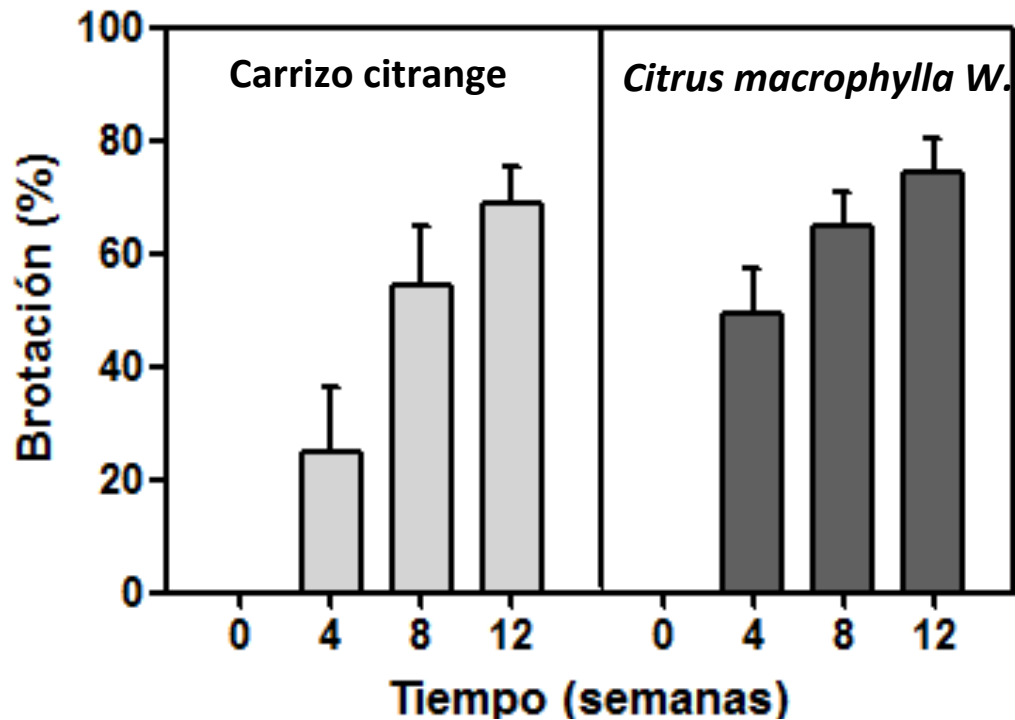
# Líneas Transgénicas Generadas

Portainjerto Gen	C-35 citrange	<i>Citrus macrophylla</i>	Carrizo Citrange	N. trifoliado (‘Rubidoux’)	Total
AVP1	3	5	2	1	11
CBF3	17	5	15	6	43
DCH	0	12	4	1	17
PgNHX1	0	3	0	1	4
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>21</b>	<b>9</b>	<b>75</b>

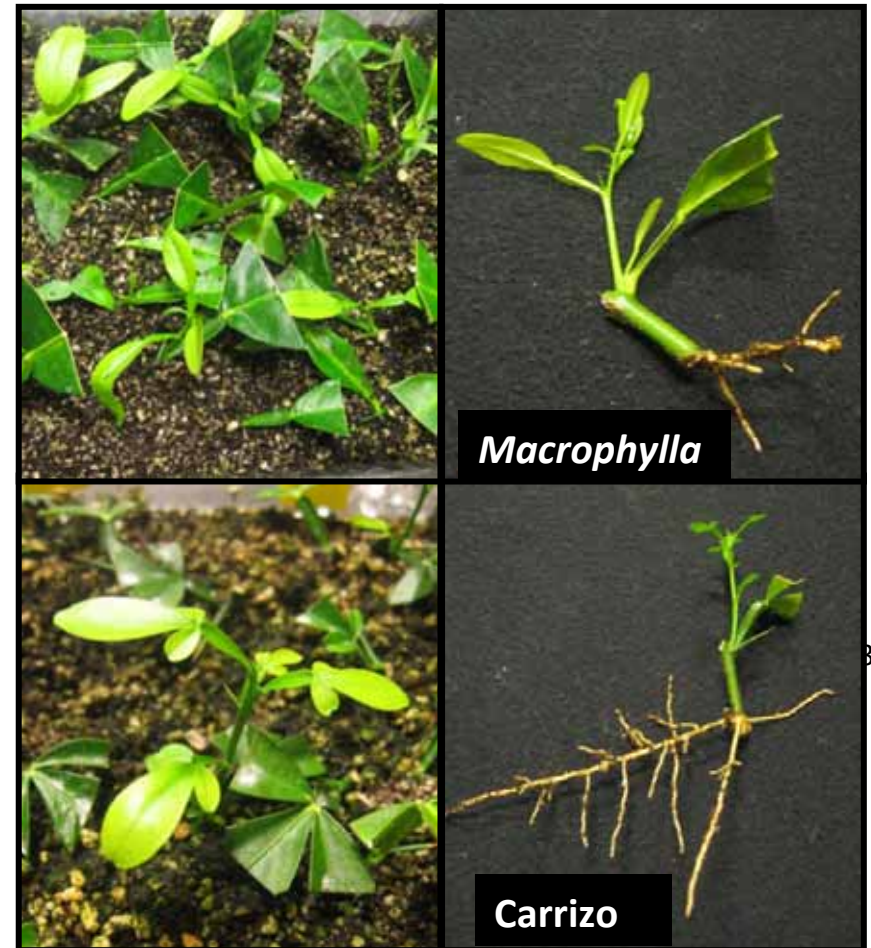


# Propagación Vegetativa de Líneas Transgénicas

Propagación por esquejes  
Solución AIB ( $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ )



Arraigamiento de líneas transgénicas de Carrizo y Macrophylla, en respuesta al tratamiento con ácido indol butírico (AIB);  $n=6$ ,  $p < 0,05$



Salt treatment

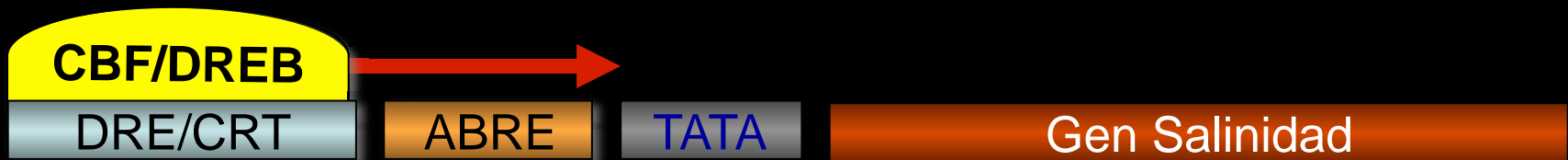


# Transformación de Portainjertos de Cítricos para Tolerancia a la Salinidad

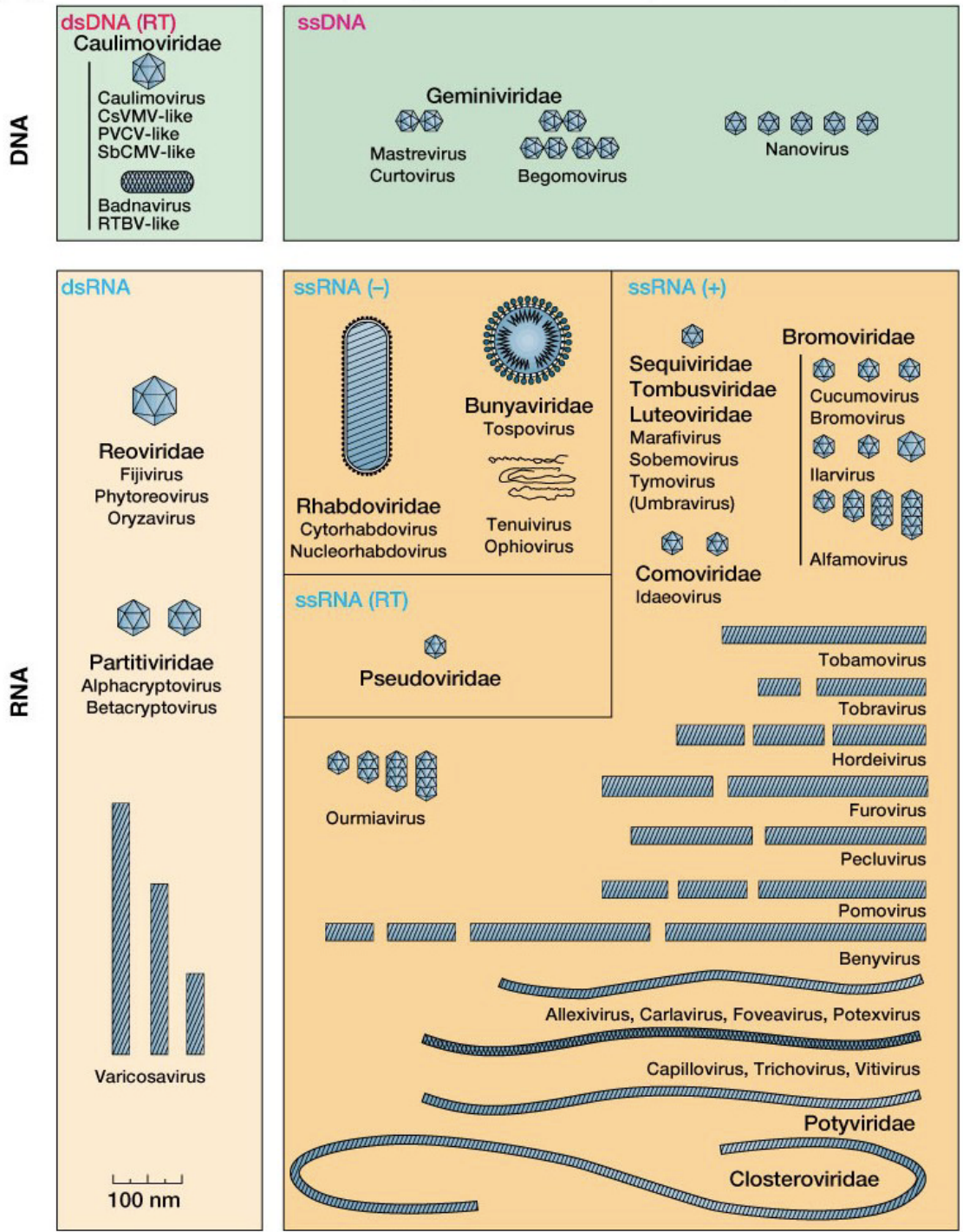


Cultivar

Portainjerto transgénico



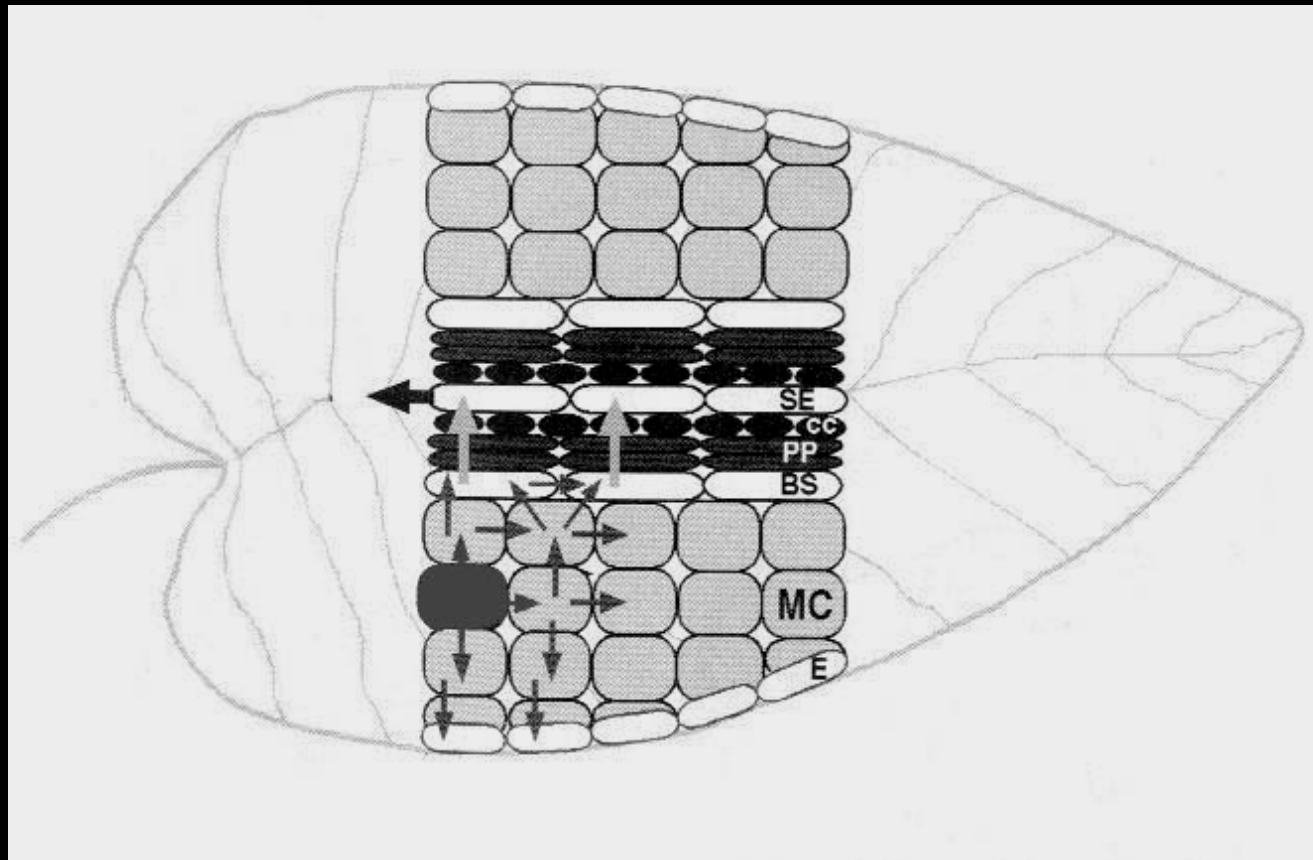
# Virus Fitopatógenos



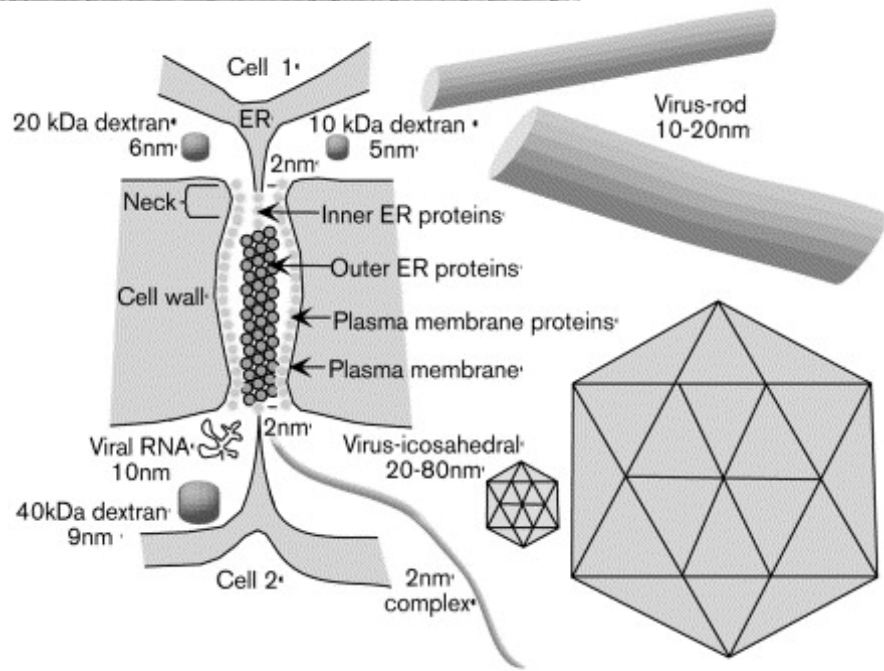
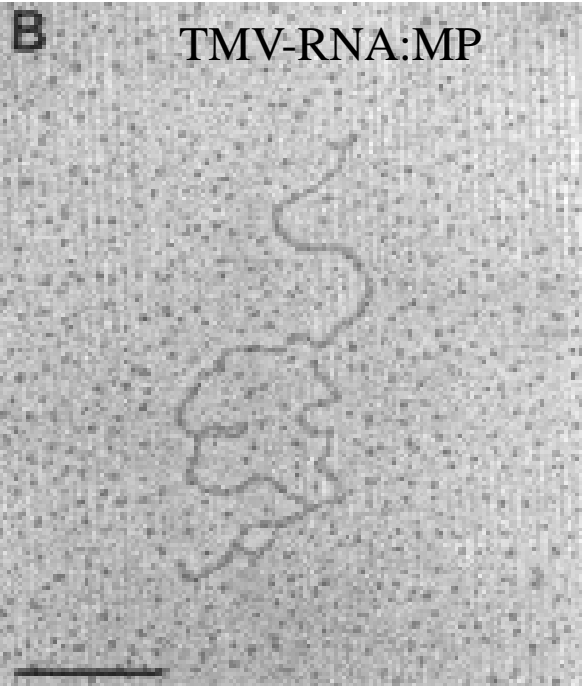
Courtesy of the Fitzwilliam Museum, University of Cambridge.



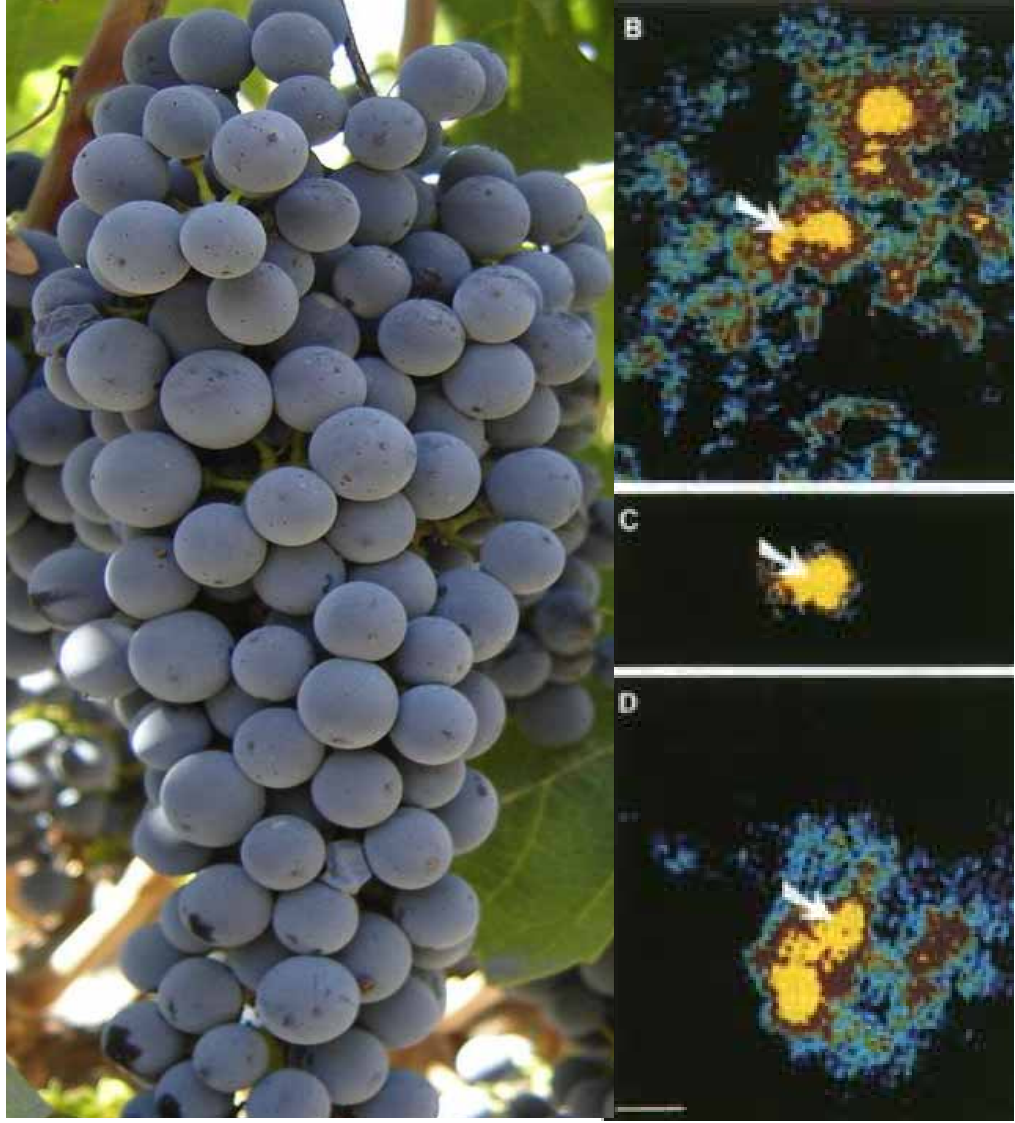
# Infección Sistémica Viral



# Movimiento de Virus en Plantas

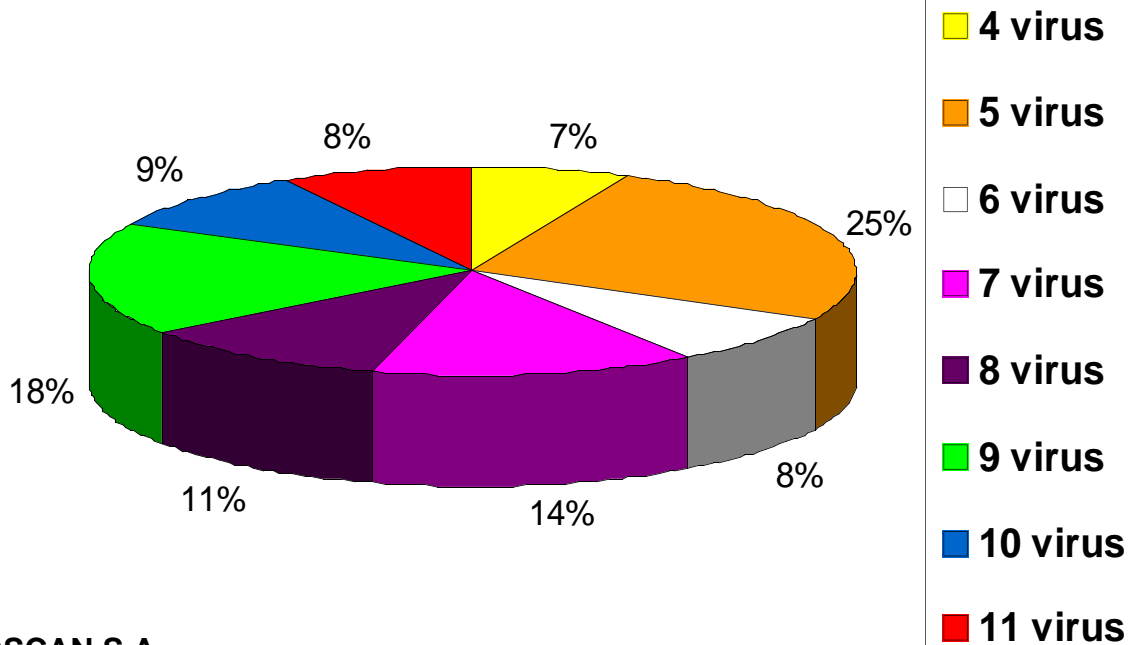
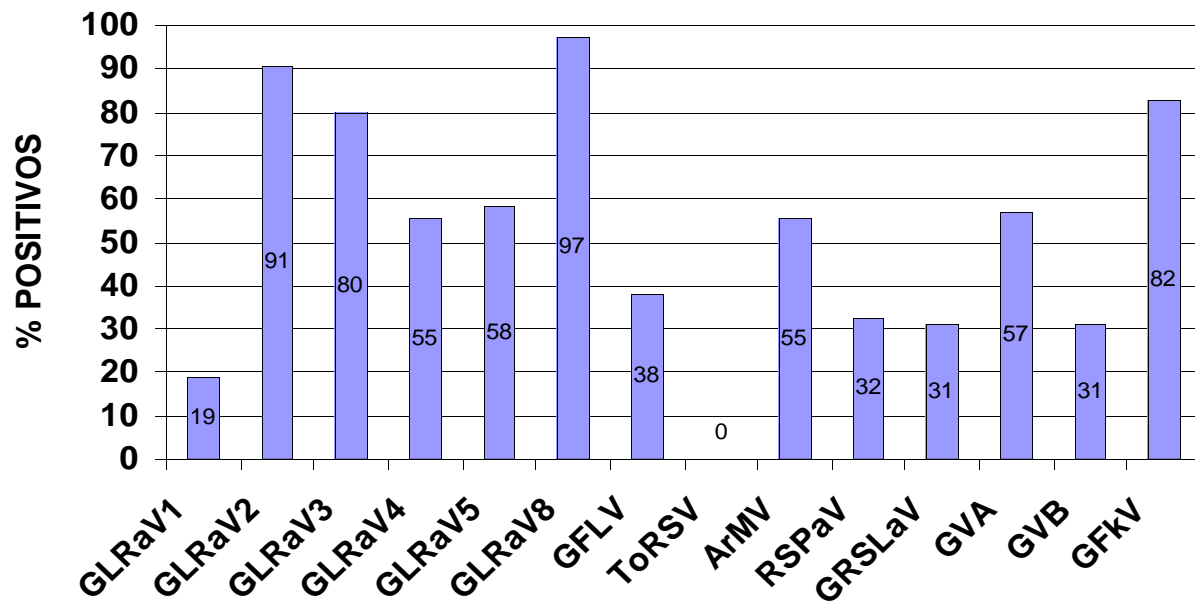


- 2nm mesophyll/epidermal PD channel diameter (1kDa)
- 4nm trichome PD channel diameter (7 kDa)
- 6nm companion cell/sieve element PD channel diameter (10-25 kDa)\*





## INFECCIÓN DE VIRUS EN VIDES



BIOSCAN.S.A

Healthy



Virus-Infected

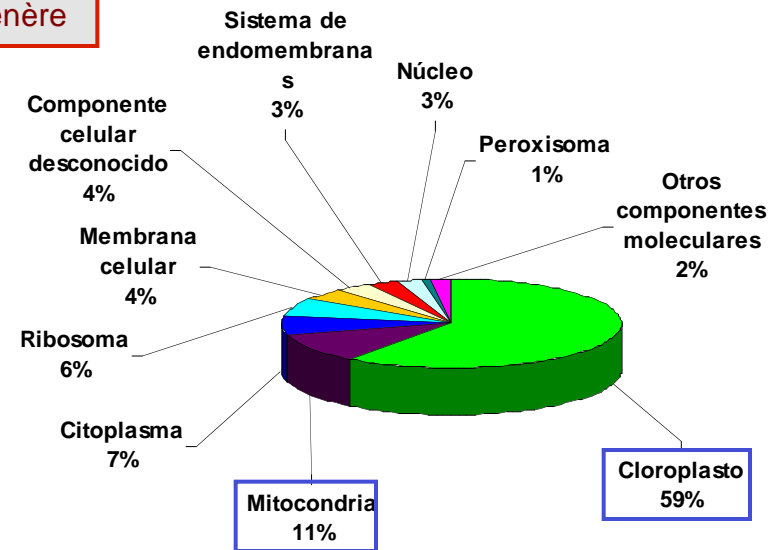


# Cambios en la expresión de genes en hojas de los cv. Carménère y Cabernet-Sauvignon inducidos por la infección con GLRaV-3

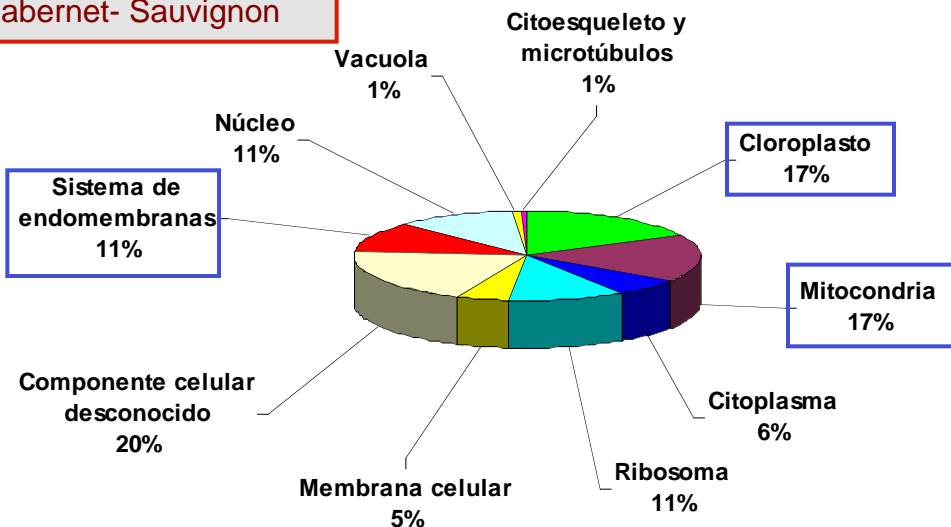
## Componente celular (genes reprimidos)



### Carménère

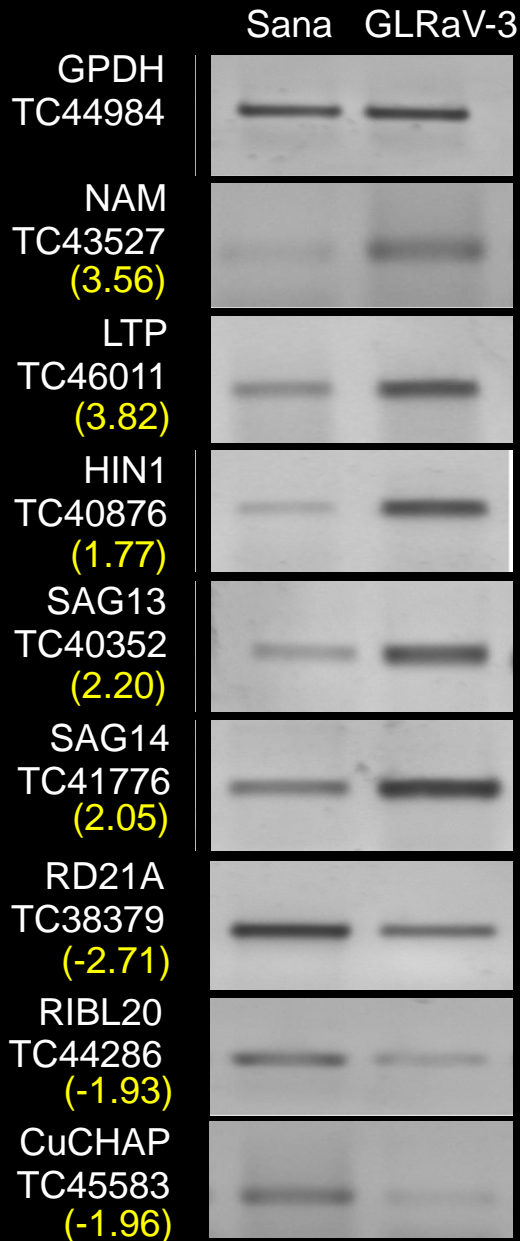


### Cabernet- Sauvignon



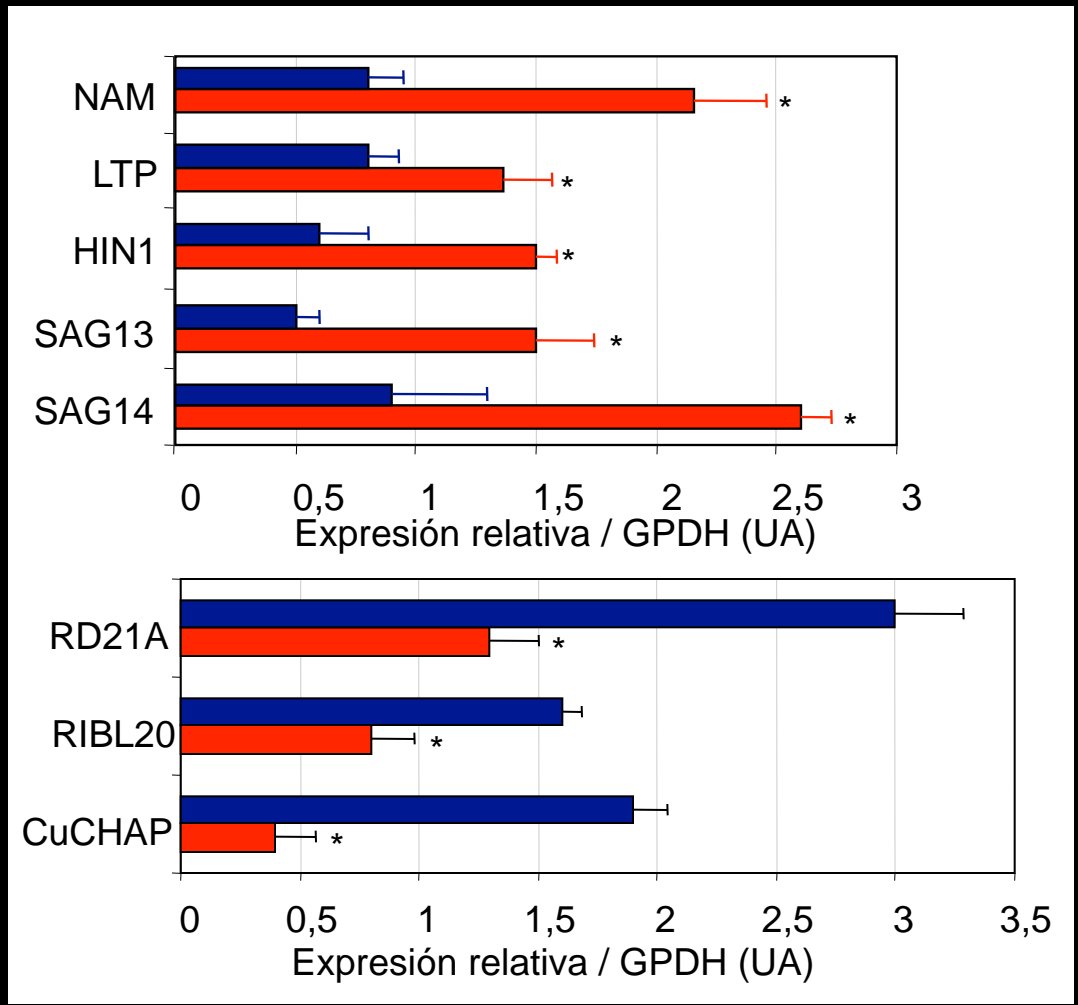
(Espinoza y cols., 2007)

# Expresión de Genes Relacionados con Senescencia Durante la Infección Viral



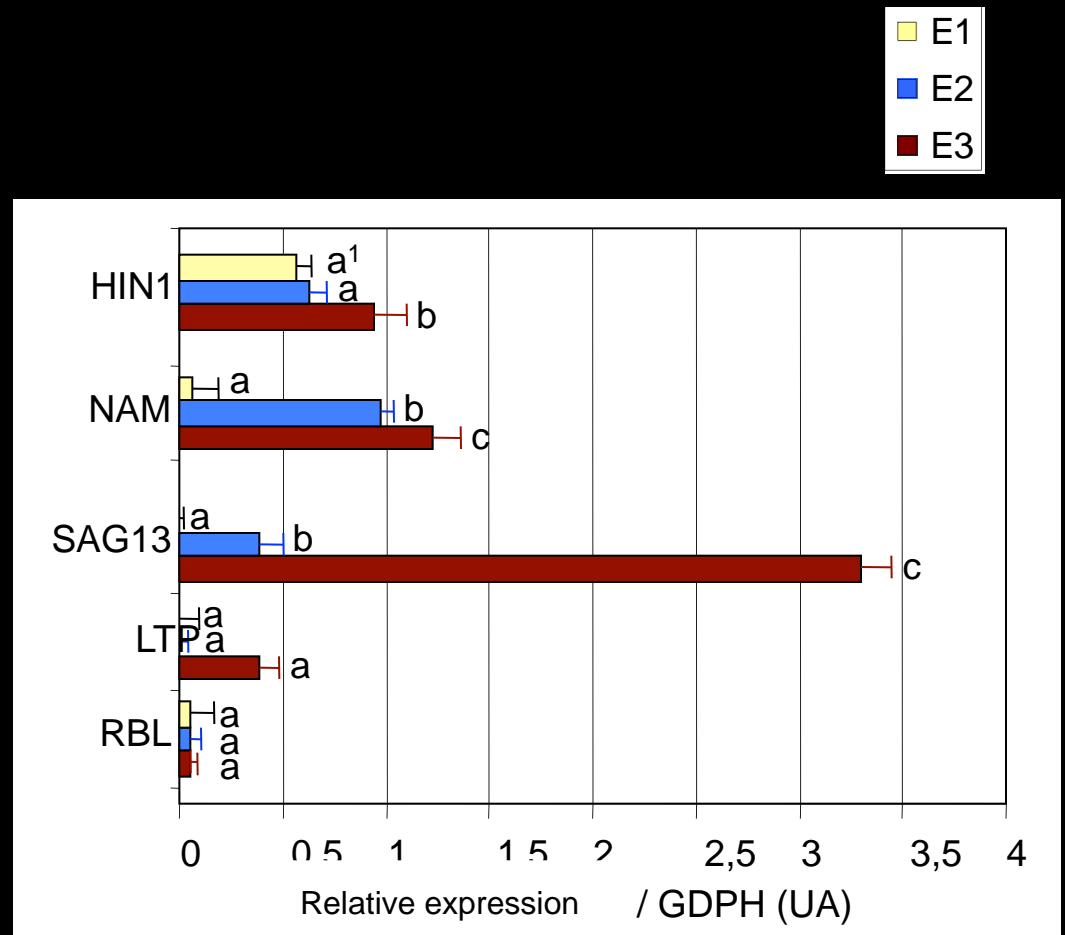
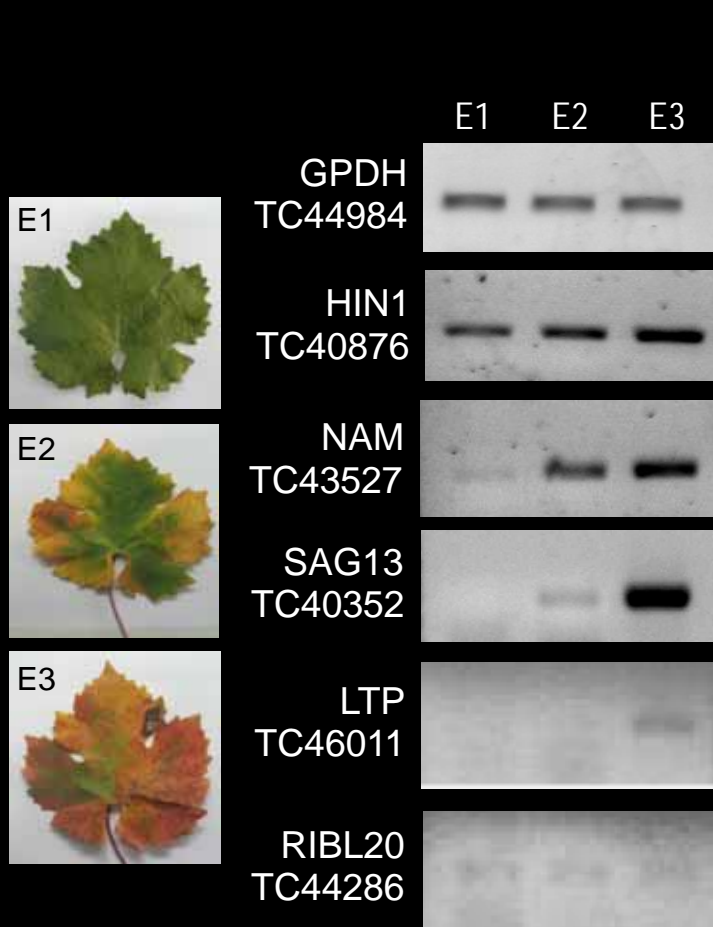
*V. vinifera* cv. Carménère – GLRaV-3  
(micromatrices Affymetrix)

■ Carménère-GLRaV-3  
■ Carménère sana



n = 3 \* p < 0,05

# Los Virus Inducen Genes de Senescencia en Hojas de Vides



(p < 0,05 n = 3)

Espinoza, C., Medina, C., Somerville, S., Arce-Johnson, P. 2007. Journal of Experimental Botany 58(12) 3197-212

Espinoza, C., Vega, A., Medina, C., Schlauch, K., Cramer, G. Arce-Johnson, P. 2007. Functional and Integrative Genomics 7(2) 95-110

## CAMBIOS EPIGENETICOS EN HOJA

---



*curly leaf*



*Grapevine leafroll virus 3*