



XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EXPRESION DE GENES DE TOLERANCIA A METALES EN UNA GRAMINEA NATIVA DEL NORTE DE CHILE UTILIZADA PARA LA FITOESTABILIZACIÓN DE COBRE

Daniel Barros, Camila Sandoval y Claudia Ortiz C. Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, claudia.ortiz@usach.cl.

Palabras clave: fitoestabilización, cobre, metalófitas

Introducción. La minería del cobre es la principal actividad económica de Chile, generando tranques de relave que son estructuras donde se acumulan los desechos. Estos sitios poseen baja materia orgánica, alta salinidad y elevados niveles de metales pesados, lo que puede originar estrés abiótico asociado a daño oxidativo en plantas establecidas sobre estos sustratos. En un ranque de relaves en el norte de Chile, se han establecido espontáneamente plantas de la gramínea nativa *Polypogon australis* (Poaceae). La especie exhibe altos niveles de tolerancia a sitios contaminados con cobre y es capaz de acumular el metal en sus tejidos tanto en ensayos realizados en laboratorio como en terreno. Estas características podrían estar asociadas a un perfil de expresión de genes relacionados con tolerancia a metales pesados.

Se caracterizó el perfil de expresión de genes para metalotioneínas (MTs), para la enzima ATPasa tipo P transportadora de Cu (HMA5), para la enzima fitoquelatina sintasa (PCS) y para la enzima ascorbato peroxidasa citosólica (APX).

Metodología. Plantas de 4 meses de edad fueron tratadas con soluciones de CuSO_4 en concentraciones de 0, 15, 25 y 50 μM por 7 días. Se extrajo RNA mediante el KIT Favorgen según instrucciones del fabricante. Para las reacciones de RT-PCR se verificó la integridad del RNA en gel de agarosa y se cuantificó el RNA para estandarizar la carga. Finalmente, se realizó la reacción según el programa que se indica, en termociclador marca Genetch: 30 ciclos; 94° C 5 min; 94° C 30 s; 60° C 30s; 72° C 30 s; 72° C 5 min.

Resultados. El perfil de expresión presentó un patrón tejido dependiente para todos los genes analizados en el tiempo, observándose una mayor expresión en las hojas respecto a las raíces (datos no mostrados). No obstante, sólo se encontró cambios en la expresión de dos genes clave en la tolerancia a metales como son MTs (Fig. 1 y 2); y APX (Fig. 3 y 4).

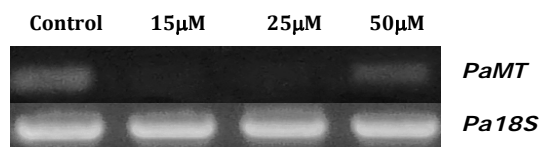


Fig. 1. Expresión del gen PaMT en hojas de *P. australis* tratadas con CuSO_4 . Plantas de 4 meses de edad fueron tratadas con CuSO_4 pH 5,0 por 7 días. RT-PCR semicuantitativo fue realizado utilizando cDNA obtenido a partir de 1 μg de RNA total.

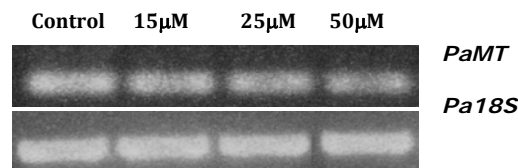


Fig. 2. Expresión del gen PaMT en raíces de *P. australis* tratadas con CuSO_4 . Plantas de 4 meses de edad fueron tratadas con CuSO_4 pH 5,0 por 7 días. RT-PCR semicuantitativo fue realizado utilizando cDNA obtenido a partir de 1 μg de RNA total.

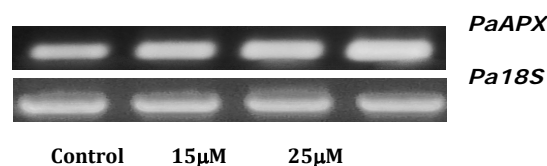


Fig. 3. Expresión del gen APX en hojas de *P. australis* tratadas con CuSO_4 . Plantas de 4 meses de edad fueron tratadas con CuSO_4 pH 5,0 por 7 días. RT-PCR semicuantitativo fue realizado utilizando cDNA obtenido a partir de 1 μg de RNA total.

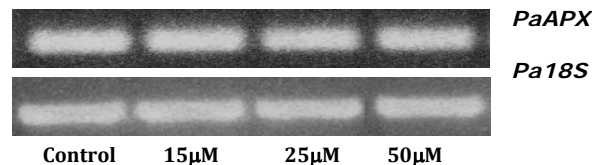


Fig. 4. Expresión del gen APX en raíces de *P. australis* tratadas con CuSO_4 . Plantas de 4 meses de edad fueron tratadas con CuSO_4 pH 5,0 por 7 días. RT-PCR semicuantitativo fue realizado utilizando cDNA obtenido a partir de 1 μg de RNA total.

Conclusiones. En plantas de *P. australis* tratadas con cobre, se observó expresión de cuatro genes asociados a tolerancia a metales pesados. Sólo APX y MT presentaron patrones de expresión dependientes del tratamiento. Estos genes forman parte de una maquinaria de defensa frente a estrés oxidativo (APX) y a tolerancia a metales pesados (MTs).

Agradecimiento. Proyecto CORFO "INNOVA_09CN14-5795

Bibliografía.

- Mittler R., Zilinskas B. (1992) Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase. *J Biol Chem* 5, 21802 – 21807.
- Lee SH., Ahsan N., Lee KW., Kim DH., Lee DG., Kwak SS., Kwon SY., Kim TH., Lee BH. (2007). Simultaneous overexpression of both CuZn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in transgenic tall fescue plants confers increased tolerance to a wide range of abiotic stresses. *Journal of Plant Physiology* 164, 1626 – 1638.