

---

**“CARACTERIZACION DE VARIANTES ALELICAS Y ESTRUCTURALES DE HEMOGLOBINAS NO SIMBIOTICAS EN PORTAINJERTOS DE FRUTALES DE CAROZO (PRUNUS SP. L.) CON DIFERENTES NIVELES DE TOLERANCIA A LA ASFIXIA RADICAL.”**

**MATÍAS NICOLAS TRONCOSO ARAVENA  
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA**

**RESUMEN**

*La hipoxia o asfixia radical restringe el desarrollo de huertos frutales de carozo en Chile, originándose por inundación o irrigación inadecuada en suelos con mal drenaje. En general, los frutales de carozo se injertan en portainjertos (del género Prunus L.) que determinan su tolerancia a la asfixia radical. La variabilidad de la respuesta de las especies del género Prunus a la hipoxia radical sugiere que diferentes estrategias habrían evolucionado en el género para enfrentar este estrés. Sin embargo, las bases moleculares de esta variación son casi desconocidas. Análisis moleculares de las respuestas de angiospermas a la asfixia radical sugieren que las Hemoglobinas no simbióticas (nsHb) cumplen un rol importante. Análisis preliminares muestran la existencia de variaciones nucleotídicas y aminoacídicas en los genes y en proteínas nsHb de Prunus, sugiriendo la existencia de polimorfismos interespecíficos que podrían producir la variación fenotípica. Esta memoria planteó: 1) Analizar las variaciones alélicas de nsHb en especies del género estudiando secuencias nucleotídicas de genes nsHb aislados, clonados y secuenciados desde genotipos representativos de 3 subgéneros de Prunus; 2) Estudiar la relación de los alelos de nsHb encontrados con la tolerancia/sensibilidad al estrés por hipoxia de los genotipos estudiados y 3) Analizar, por modelos tridimensionales y estudios de unión de ligandos, el potencial impacto de variaciones alélicas en estructura y funcionalidad de las nsHb.. En esta memoria se estudiaron las nsHb de distintos portainjertos del género Prunus con especial énfasis en la estructura y su unión con ligandos gaseosos. Se trabajó con secuencias pertenecientes a los tres subgéneros de Prunus para indagar en su historia evolutiva y con las estructuras de nsHbs de Mariana y Mazzard F12, cuyos modelos tridimensionales fueron generados utilizando como template la estructura PDB 3QQQ* Palabras claves: estructura tridimensional, hemoglobinas, hipoxia, ligandos, mariana, mazzard F12, nsHb, óxido nítrico, oxígeno, Prunus

## ABSTRACT

*The radical hypoxia or asphyxia restricts the development of stone fruit orchards in Chile, originated by flooding or inadequate irrigation in soils with poor drainage. In general, stone fruit trees are grafted onto rootstocks (genus Prunus L.) which determine their tolerance to radical asphyxia. The variability on the response of species from the Prunus genus to the radical hypoxia, suggests that different strategies have evolved in the genus to address this stress. However, the molecular base of this variation is almost unknown.*

*Molecular analyzes of the responses in angiosperms to radical asphyxia, suggest an important role of non-symbiotic hemoglobins (nsHb). Preliminary analyzes show the existence of nucleotide and amino acid changes in nsHb genes and proteins of Prunus, suggesting the existence of interspecific polymorphisms that could produce phenotypic variation.*

*This thesis follows: 1) To analyze the allelic diversity of nsHb in species of the genus, studying nucleotide sequences of nsHb from 3 representative subgenera of Prunus genotypes , 2) To study the relationship of nsHb alleles found with tolerance / hypoxic stress sensitivity of the genotypes studied and 3) to analyze, by three-dimensional models and ligand binding studies, the potential impact of allelic variations in structure and functionality of nsHb.*

*The nsHbs of different rootstocks of genus Prunus was studied in this thesis with special emphasis on structure and ligands interactions. We worked with sequences belonging to three Prunus subgenus to investigate its evolutionary history and structures in nsHbs from Mariana and Mazzard F12 cultivars, whose three-dimensional models were generated using as template the PDB structure 3QQQ*

*Keywords: three-dimensional structure, hemoglobins, hypoxia, ligands, mariana, mazzard F12, nsHb, nitric oxide, oxygen, Prunus.*