

ÍNDICE

	Página
Resumen	V
Abstract	VI
Palabras claves	VII
Lista de tablas	VIII
Lista de figuras	X
Lista de anexos	XII
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 La fitorremediación sus ventajas, limitaciones y mejoramiento	2
1.2 Presencia de metales pesados en el ambiente y la necesidad de fitorremediarlos	4
1.3 Transporte y acumulación de metales en las plantas	6
1.4 Mecanismos moleculares de destoxificación y tolerancia a metales pesados	7
1.4.1 Regulación de la absorción	8
1.4.2 Quelación	8
1.4.3 Compartimentación en la vacuola	9
1.4.4 Sistema antioxidativo	9
1.5 Control genético asociado a la tolerancia metales pesados	10
1.6 Mecanismos relacionados a la homeostasis y tolerancia a Cu	11
1.7 Uso de los álamos como especies para fitorremediación y modelo de estudio	13
1.8 Mecanismos de tolerancia a metales pesados en álamo	14
1.9 Hipótesis y objetivos	16

II. MATERIALES Y MÉTODOS	17
2.1 Materiales	18
2.1.1 Material vegetal	18
2.1.2 Oligonucleótidos partidores para Reacción de la Polimerasa en Cadena	18
2.1.3 Arreglos de cDNA	19
2.1.4 Software	20
2.1.5 Reactivos	20
2.2 Métodos	21
2.2.1 Producción y crecimiento de plantas	21
2.2.2 Tratamientos de estrés con Cu	22
2.2.3 Evaluación fenotípica	23
2.2.4 Extracción y evaluación de la calidad de los ácidos nucleicos	26
2.2.5 Amplificación de DNA mediante PCR	27
2.2.6 Análisis de expresión génica mediante hibridación de arreglos de cDNA	27
2.2.7 Análisis de expresión génica mediante hibridación Northern	32
2.2.8 Análisis de regiones promotoras	33
2.2.9 Cuantificación de Cu	34
III. RESULTADOS	35
3.1 Distintos genotipos de álamos presentan respuestas fenotípicas diferentes al ser sometidos a estrés por Cu	36
3.2 En plantas de álamo sometidas a estrés por exceso de Cu, el metal se acumula en las raíces	45
3.3 Un conjunto de genes regulados diferencialmente fue identificado en álamos del genotipo G1 sometidos a distintas condiciones de estrés por Cu	49
3.3.1 Identificación de genes regulados diferencialmente	51
3.3.2 Clasificación de los genes según su tipo de regulación	54

3.3.3 Clasificación de los genes según su especificidad de regulación	56
3.3.4 Genes regulados diferencialmente en todos los tratamientos con Cu	58
3.3.5 Análisis de perfiles de expresión	62
3.3.6 Verificación de resultados	67
3.4 Un conjunto de genes regulados diferencialmente fue identificado en dos genotipos de álamo con respuestas contrastantes al estrés Cu	70
3.4.1 Identificación de genes	70
3.4.2 Clasificación de los genes según función y especificidad de regulación	72
3.4.3 Clasificación de los genes según su regulación	75
3.4.4 Genes regulados diferencialmente en las dos especies de álamo	77
3.4.5 Análisis de perfiles de expresión	86
3.4.6 Verificación de resultados	90
3.4.7 Análisis de la expresión de genes relacionados con el metabolismo del glutatión	93
3.5 Genes asociados a mecanismos moleculares de tolerancia a metales pesados fueron regulados diferencialmente por Cu	95
3.6 En las regiones promotoras de genes con respuesta diferencial bajo condiciones de estrés por Cu se identificaron elementos cis asociados a distintas señales de regulación	97
IV. DISCUSIÓN	100
4.1 Respuestas fenotípicas de los álamos frente al estrés por Cu	101
4.2 Distribución de Cu en plantas sometidas a estrés	104
4.3 Genes regulados diferencialmente bajo condiciones de estrés por Cu	105
4.3.1 Defensa contra estrés biótico y abiótico	105
4.3.2 Metabolismo	109
4.3.3 Proteínas quelantes de metales	113
4.3.4 Genes que codifican proteínas de transporte	112

4.4 Genes regulados diferencialmente en genotipos tolerante y sensible en respuesta al estrés por Cu	116
4.5 Posibles mecanismos involucrados en la regulación de la respuesta al estrés por Cu	117
4.6 Implicancias para investigaciones futuras	122
V. CONCLUSIONES	123
VI. BIBLIOGRAFÍA	126
VII. ANEXOS	142