



ESTUDIO DE LA MODIFICACIÓN GÉNICA EN CONÍFERA COMO RESPUESTA A LA PÉRDIDA DE VERTICALIDAD

**CARMEN DONOSO CORNEJO
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la expresión diferencial de genes de xilema de plántulas de *Pinus radiata* expuestas a una inclinación de 45°. Al extraer el RNA y analizar los transcritos, se busca determinar el mecanismo molecular implicado en la respuesta a la pérdida de verticalidad de fuste durante el crecimiento.

Se evaluó el comportamiento de 69 plantas sometidas al tratamiento, comparándose contra 25 plantas controles con crecimiento normal.

Se colectaron muestras a partir de tallo superior, tallo inferior, hoja y raíz, durante tres tiempos diferentes (2:30 horas, 10 horas y 24 horas), se transportaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C hasta su posterior procesamiento.

Se extrajo el RNA por el método de CTAB, posteriormente se sometió a tratamiento con DNAsa para sintetizar a partir del RNA cDNA, el cual se procesó por SSH para generar bibliotecas de ESTs. La clonación y la caracterización de los genes expresados se realizó mediante Hibridación Sustractiva. Se secuenciaron 31 fragmentos diferenciales dentro de los cuales se identificaron genes estructurales de pared celular, transporte, metabolismo y otros.

Así mismo se realizó una hibridación de RNA total en membrana con los distintos fragmentos secuenciados por SSH, observándose solamente una hibridación positiva con el clon 8, el cual representa el gen que codifica a la enzima adenosil metionina sintetasa relacionada con el proceso de biosíntesis de las poliaminas e involucradas en la multiplicación y en el crecimiento celular en el pino, observándose una expresión no tejido específica de esta secuencia.

Las demás hibridaciones no entregaron resultados positivos por lo cual se seguirá el estudio, con el uso de técnicas más sensibles como PCR en tiempo real.