

## Estudio de la respuesta al estrés hídrico en dos poblaciones de encina (*Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) mediante una aproximación de proteómica comparativa basada en electroforesis bidimensional

José Valero Galván<sup>1</sup>, Rafael M<sup>a</sup> Navarro Cerrillo<sup>2</sup>, M<sup>a</sup> Cristina Romero Rodríguez<sup>1</sup>, David Ariza<sup>2</sup>, Jesús Jorrín Novo<sup>1</sup>

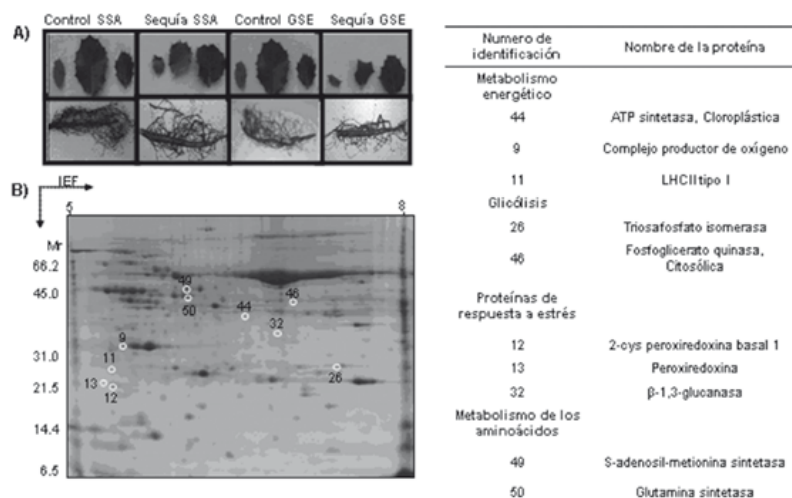
<sup>1</sup> Grupo de Bioquímica, Proteómica Vegetal y Agrícola. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Córdoba, España. <sup>2</sup> Departamento de Ingeniería Forestal. ETSIAM, Universidad de Córdoba. Córdoba, España

### Resumen

La encina (*Quercus ilex* subsp. *ballota*) es una de las especies forestales más importantes del Bosque Mediterráneo, siendo ampliamente utilizada en programas de conservación forestal, reforestación y otras prácticas silvícolas. El éxito de dichas prácticas depende, en gran medida, de la supervivencia de las plántulas, siendo el estrés por sequía la principal causa de mortalidad tras el trasplante. Es por ello que la selección de “individuos plus” con tolerancia a estrés hídrico es de gran importancia. Los mecanismos de respuesta a estrés en encina y su variabilidad poblacional han sido muy poco estudiados. En el presente trabajo se ha evaluado, mediante una aproximación de proteómica comparativa basada en geles bidimensionales, la respuesta diferencial de dos poblaciones de encina a la sequía. Aunque dicha aproximación revela diferencias en la intensidad de manchas entre tratamientos, no lo hace

entre poblaciones, sin que, por otro lado, hayamos podido asociar las diferencias observadas al carácter más o menos tolerante de la población utilizada. Ello puede ser debido a la intensidad y duración del estrés, a las dificultades del sistema experimental o limitaciones de la técnica.

Nuestro grupo de investigación está trabajando en un proyecto de investigación (Variabilidad, catalogación, respuesta a estreses y propagación clonal de encina (*Q. ilex*), DECOVA, AGL2009-12243-C02-02), dirigido, entre otros objetivos, a estudiar la respuesta de la encina a estrés producido por sequía utilizando una aproximación multidisciplinar, proteómica incluida [1, 2]. La proteómica en especies forestales no es fácil, debido a su dificultad como sistema experimental (variabilidad genética alta, ciclo de vida largo, ausencia de entradas en bases de datos de DNA genómico, ESTs o proteínas). No obstante, su estudio está justificado dada la impor-



**Figura 1.** A) Imagen de hojas y raíz de plantas de las dos poblaciones utilizadas a los 28 días del tratamiento de sequía. SSA (población almeriense), GSE (población sevillana). B) Gel 2-DE representativo de extractos de hoja de encina. La imagen corresponde a una muestra de la población SSA a los 28 días del tratamiento de sequía. En la tabla se indican las proteínas identificadas correspondientes a manchas diferenciales entre tratamientos.

tancia económica y medioambiental de la especie, componente principal de la “dehesa” y el Bosque Mediterráneo. Mediante una aproximación de proteómica de expresión diferencial basada en electroforesis bidimensional se han analizados cambios en el perfil proteico de dos poblaciones de encina [Almería (SSA) y Sevilla (GSE)] [3] sometidas a estrés hídrico mediante riego deficitario (28 días). Previamente se caracterizó la respuesta de las dos poblaciones mediante parámetros de crecimiento, potencial hídrico, humedad relativa en raíz y hojas, y eficiencia fotosintética (resultados no publicados). A tenor de los resultados obtenidos se concluyó que la población SSA fue más tolerante, mientras que la población GSE fue la más susceptible (Figura 1A).

Las proteínas de hoja (300 mg) de plantas de un año de crecimiento (control, plantas regadas cada tres días; tratamiento de sequía, plantas no regadas a los 28 días) fueron extraídas usando el protocolo de precipitación TCA-FENOL [4]. Las condiciones de electroforesis, tinción, análisis de los geles y estadístico e identificación de proteínas se realizaron como lo indica Maldonado et al. [4].

Después de la tinción de los geles y análisis de las imágenes se detectaron alrededor de 350-370 manchas. Tras el análisis estadístico se concluyó que existían 40 manchas diferenciales entre tratamientos y tan solo 4 entre poblaciones (muestras control). Dado el carácter de especie huérfana de encina, el porcentaje de identificación fue bajo, menos del 50 % de las manchas diferenciales. En general, se observó como consecuencia del tratamiento de sequía un descenso en la intensidad de manchas correspondientes a proteínas fotosintéticas, fosfoglicerato-quinasa (glicólisis), peroxiredoxinas (estrés oxidativo) y una glucanasa (proteína de defensa frente a patógenos) (Figura 1B). Por el contrario se observó un aumento de intensidad de la glutamina sintetasa y la s-adenosil-metionina sintetasa. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las dos poblaciones analizadas, tanto en controles como en tratamiento de sequía.

Estos resultados son similares a los obtenidos en plántulas de encina sometidas a diferentes niveles de estrés hídrico [1, 2] y a otras especies forestales como el caso del género *Populus* [5], sin que hasta la fecha, y en especies forestales, se haya concluido de forma contundente la base molecular de la respuesta a estrés, y si las consecuencias del estrés.

## Referencias

- [1] Jorge I, Navarro-Cerrillo RM, Lenz C, Ariza D, Jorrín J, Variation in the holm oak leaf proteome at different plant developmental stages, between provenances and in response to drought stress. *Proteomics*, 2006; 6: S207–14.
- [2] Echevarría-Zomeño S, Ariza D, Jorge I, Lenz C, Campo A, Jorrín J, Navarro-Cerrillo, RM. Changes in the protein profile of *Quercus ilex* leaves in response to drought stress and in response to drought stress and recovery. *J. Plant Physiol.* 2009; 166:233–245.
- [3] Valero GJ, Navarro-Cerrillo RM, Gómez CA, Ariza D, Jorrín J. Population variability and mother tree selection in holm oak (*Quercus ilex* L. subsp. *ballota* [Desf.] Samp.) based on acorn morphometry and analysis by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). 2009, (Submitted).
- [4] Maldonado AM, Echevarría-Zomeño S, Jean-Baptiste S, Hernandez M, Jorrín-Novo JV. Evaluation of three different protocols of protein extraction for *Arabidopsis thaliana* leaf proteome analysis by two-dimensional electrophoresis. *J. Proteomics*, 2008; 71:461–72.
- [5] Bonhomme L, Monclus R, Vincent D, Carpin S, Claverol S, Lomenech MA, Labas V, Plomion C, Brignolas F, Morabito D. Genetic variation and drought response in two *Populus euramericana* genotypes through 2-DE proteomic analysis of leaves from field and glasshouse cultivated plants. *Phytochemistry*, 2009; 70: 988–1002.