

# PRINCIPALES GENES ASOCIADOS A LOS MECANISMOS DE RESPUESTA A ESTRÉS HÍDRICO Y TÉRMICO EN PAPAS

*María Teresa Pino  
Francisca Aguayo*

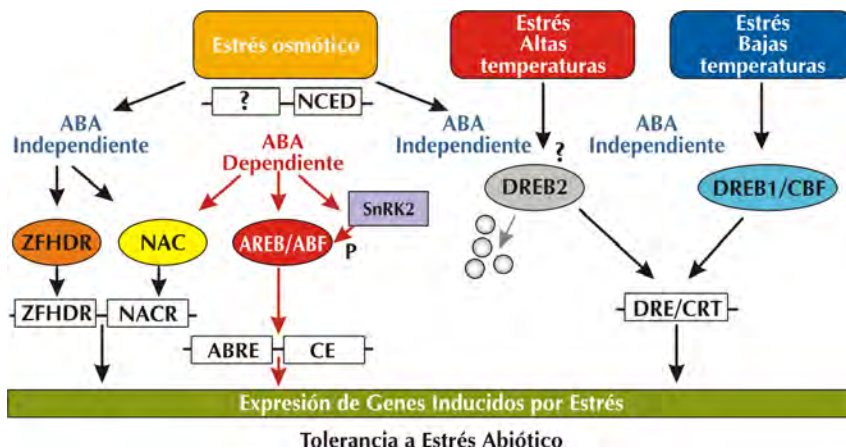
Las plantas al enfrentar estrés del tipo abiótico, ya sea por sequía, salinidad, y temperaturas extremas, además de reducir significativamente su desarrollo vegetativo y productividad, sufren una serie de cambios a nivel molecular asociados a la activación de mecanismos de respuesta y aclimatación (Mahajan y Tuteja, 2005; Hu *et al.*, 2010). Varios estudios demuestran que algunos de estos mecanismos de respuestas son comunes entre los diferentes tipos de estrés, compartiendo no sólo algunas rutas metabólicas sino además genes y metabolitos (Hu *et al.*, 2010; Fraire-Velázquez *et al.*, 2011). Los avances en genómica y las plataformas de identificación genes tanto reprimidos como sobre expresados en función de estreses abióticos específicos han permitido identificar un gran número de genes. Sin embargo, el rol específico de la mayoría de estos genes sólo se ha dilucidado parcialmente y aún resta mucho por conocer. A continuación, se discutirá algunos de los genes más relevantes asociados a estrés abiótico en papas.

## LA RESPUESTA A ESTRÉS ABIÓTICO OCURRE A TRAVÉS DE VÍAS DE SEÑALIZACIÓN DEPENDIENTES Y/O INDEPENDIENTES DE ABA

Varios estudios han reportado que los niveles de ácido abscísico (ABA), se incrementan en tejidos vegetales frente a estrés abiótico y particularmente frente a estrés hídrico, sugiriendo que ABA juega un importante rol integrando las señales de varios estreses (Tuteja,

2007). Sin embargo, también se ha observado la activación de genes que no responden a ABA, sugiriendo que las respuestas a estrés abiótico ocurren a través de vías de señalización que pueden ser dependientes y/o independientes de la acción de ABA (Nakashima *et al.*, 2014). La mayoría de los genes de respuesta a estrés abiótico se agrupan en tres categorías: genes reguladores que median la respuesta de otros genes como los factores de transcripción (FT), genes que participan en las rutas de transducción de señales durante la respuesta al estrés y genes que protegen la célula directamente del daño por estrés (Tran *et al.*, 2007; Nakashima *et al.*, 2014).

En relación con los FT se puede identificar al menos cuatro grupos de genes controlados por FTs conocidos como regulones (**Figura 4.1**): se distinguen la secuencia de reconocimiento NAC (NACR) identificados como esenciales para activar al gen ERD1 (por su sigla en inglés, Early Responsive to Dehydration Stress 1) en respuesta a estrés osmótico (Tran *et al.*, 2007). El regulón AREB/ABF a través del elemento de respuesta a ABA (ABRE), activa la expresión de los genes



**Figura 4.1.** Red de regulación transcripcional de elementos de activación en cis y factores de transcripción involucrados en la respuesta a estrés abiótico en la expresión génica en *Arabidopsis thaliana* (adaptado de Nakashima *et al.*, 2009).

dependientes de ABA (Peleg y Blumwald, 2011). Por otra parte, el regulón DREB2 responde tanto a estrés osmótico como térmico, como DREB2A-CA que induce la expresión de genes relacionados con shock térmico, como HSP (por su sigla en inglés, Heat Shock Protein) mejorando la termo-tolerancia (Sakuma *et al.*, 2006; Nakashima *et al.*, 2009). El regulón DREB1/CBF que está involucrado principalmente en las respuestas a bajas temperaturas es altamente conservado en plantas, incluye FTs que actúan en cis a través del elemento tipo DRE/CTR (por su sigla en inglés, Dehydration-Resposive Element/C-repeat), los cuales activan la expresión de varios otros genes que codifican proteínas involucradas en la producción de osmoprotectores, antioxidantes y otros tipos de respuesta (Yamaguchi-Shinozaki y Shinozaki, 1994; Saibo *et al.*, 2009).

## REGULÓN DREB1/CBF Y ESTRÉS ABIÓTICO EN PAPAS

Un estudio de micro arreglo que evaluó el regulón DREB1/CBF y el efecto de bajas temperaturas en dos especies de papas, que difieren significativamente en su tolerancia a heladas: *S. tuberosum* una especie sensible a temperaturas inferiores a  $-3^{\circ}\text{C}$  y *Solanum commersonii* Dun capaz de incrementar su tolerancia a heladas en respuesta a bajas temperaturas (desde  $-4^{\circ}\text{C}$  a  $-10^{\circ}\text{C}$ ) mostró diferencias interesantes en la expresión de genes (Carvallo *et al.*, 2011). Ambas especies mostraron alteraciones a nivel de expresión génica al ser expuestas a bajas temperaturas. Se observaron diferencias significativas en términos de los grupos de genes activados y en la respuesta del regulón DREB1/CBF; destacando algunos genes como HSP60, LEA14, RD26, SUS1, HSFA8, COR47, ERD14 también identificados en *Arabidopsis* en respuesta a bajas temperaturas. Mientras en *S. commersonii* se identificaron 160 ESTs asociados al regulon CBF, en *S. tuberosum* se identificaron 170 ESTs, compartiendo sólo 54 ESTs en común (Carvallo *et al.*, 2011). Otros estudios también en papas y estrés abiótico han sugerido que DREB1/CBF cumpliría un rol relevante en tolerancia a bajas temperaturas y estrés hídrico (Pino *et al.*, 2007, 2008, 2013; Movahedi *et al.*, 2012; Bouaziz *et al.*, 2013).

## DEHIDRINAS (DHNs) Y ESTRÉS ABIÓTICO EN PAPAS

El grupo 2 de proteínas LEA, llamadas deshidratinas (DHNs), es común encontrarlo en células embrionarias de semillas. Algunas de ellas son inducibles por ABA y/o sintetizadas en respuesta a varios tipos de estreses abióticos incluyendo sequía, bajas temperaturas y salinidad (Close, 1997). Las DHNs se caracterizan porque en su estructura tienen un dominio rico en lisina con 15 aminoácidos altamente conservados, EKKGIMDKIKEKLPG, denominado el segmento K. También presenta una cadena de residuos de Ser (el segmento S), un motivo de consenso, T/VDEYGNP (el segmento Y), y regiones menos conservadas, ricas en aminoácidos polares (segmentos  $\Phi$ ). Las DHNs se clasifican en 5 grupos: YnSKn, YnKn, SKn, Kn y KnS. Las DHNs de los grupos YnSKn y YnKn, han sido asociadas principalmente a estrés hídrico, mientras que las DHNs del grupo SKn han sido asociadas a estrés hídrico y estrés por bajas temperaturas. Aun cuando se desconoce su rol con exactitud, se sugiere que participan en la protección celular contra la deshidratación. Se han descrito varias funciones en las que podrían estar involucradas, como la estabilización de membranas mediante interacciones hidrofóbicas con los segmentos K, como chaperonas impidiendo la agregación de proteínas, en la protección de la maquinaria transcripcional, viabilidad de la semilla, protección al citoesqueleto y como antioxidantes debido a su capacidad para unir iones de metales libres (Allagulova *et al.*, 2003; Olvera-Carrillo *et al.*, 2010). La expresión de DHNs en respuesta a estrés abiótico ha sido descrita en varias especies como *Arabidopsis* (Olvera-Carrillo *et al.*, 2010), trigo (Kobayashi *et al.*, 2005; Kume *et al.*, 2005), tabaco (Wang *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2009) y papas. En estas últimas, se ha observado expresión de DHNs en papas transgénicas sobre-expresando FT del tipo CBF bajo estrés por bajas temperaturas y estrés hídrico *in vitro* (Pino *et al.*, 2008; Pino *et al.*, 2013). Otro estudio reciente en papa, que evaluó el efecto de estrés salino e hídrico en plántulas *in vitro* (PEG8000), mostró expresión de los genes StDHN2a, StDHN1 y StDHN25 en los tratamientos bajo estrés (Charfeddine *et al.*, 2015).

## GENES RELACIONADOS CON SHOCK TÉRMICO Y ESTRÉS ABIÓTICO EN PAPAS

Un estudio también en papa, que evaluó la respuesta a estrés por sequía en diferentes accesiones of *S. tuberosum ssp. Andigena* mostró que HPS cumplían una función importante en la adaptación y aclimatación (Watkinson *et al.*, 2006). Luego, otro estudio que evaluó genotipos de papas tolerantes a sequía (Sullu & SA2563) en conjunto con reportar la expresión de HSP, también mostró la expresión de genes anti-oxidantes, flavonoides, LEAs, con otros genes envueltos en ajuste osmótico y en el metabolismo de carbohidratos (Schafleitner *et al.*, 2007). Por otra parte, al estrés por altas temperaturas en plantas, se han asociado cuatro categorías de genes: HSP, genes que intervienen en la vía de síntesis de osmolitos, genes de enzimas regulando la fluidez de la membrana y de enzimas manteniendo ROS (Grover *et al.*, 2013; Lavania *et al.*, 2015).

## OTROS GENES ASOCIADOS A ESTRÉS ABIÓTICO EN PAPAS

En papas, algunos estudios han identificado genes que codifican para enzimas que sintetizan osmoprotectores que cumplen un rol fundamental a nivel celular en la mantención de los potenciales hídricos. Algunos ejemplos de este tipo de genes son: P5CS (por su sigla en inglés, Pyrroline carboxylate synthase), precursor de la síntesis de prolina y asociado a la respuesta a salinidad (Hmida-Sayari *et al.*, 2005) y a la acumulación de fructanos SST/FFT (por su sigla en inglés, Sucrose 1-Fructosyl Transferase/Fructan 1-Fructosyl Transferase) (Knipp y Honermeier, 2006). En la **Tabla 4.1**, se listan varios genes que han sido estudiados y sobre-expresado en papas, en respuesta a estrés abiótico.

**Tabla 4.1.** Genes relacionados con estrés abiótico evaluados en papas transgénicas.

Gen	Origen	Función	Tolerancia a estrés abiótico	Referencias
<b>Genes involucrados en la regulación de procesos metabólicos</b>				
CaPF1	<i>Capsicum annuum</i>	Factor de transcripción de respuesta a etileno tipo ERF/AP2	Estrés abiótico, principalmente estrés oxidativo.	Youm et al., 2008
NIDPK1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Nucleósido Difosfato Quinasa 2	Resistencia a múltiples estreses (oxidativo, salino y por altas temperaturas)	Tang et al., 2008
AtCBF1-3/ DREB1B, 1A,1C	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Factor de transcripción que induce la expresión de genes de respuesta a frío (genes COR)	Aumento en la tolerancia a estrés por heladas	Pino et al., 2007
AtCBF1/ DREB1B	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Factor de transcripción que induce la expresión de genes de respuesta a frío (genes COR)	Aumento en la tolerancia a estrés por heladas	Pino et al., 2008
DREB1B/ AtCBF1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Factor de transcripción activador en respuesta a deshidratación	Incremento en la tolerancia a estrés por sequía y congelación.	Movahedi et al., 2012
ScCBF1/ ScDREB1B	<i>Solanum commersonii</i>	Factor de transcripción que induce osmoprotectores	Incremento en la tolerancia a estrés por sequía <i>In vitro</i>	Pino et al., 2013
StDREB-/ CBF	<i>Solanum tuberosum</i>	Factor de transcripción activador en respuesta a deshidratación	Aumento en la tolerancia en condiciones de estrés salino.	Bouaziz et al., 2013

Continuación Tabla 4.1. Genes relacionados con estrés abiótico evaluados en papas transgénicas.

Gen	Origen	Función	Tolerancia a estrés abiótico	Referencias
<b>Genes involucrados en la biosíntesis de osmolitos y metabolitos</b>				
SST/FFT	<i>Cynara scolymus</i> (alcachofa)	Acumulación de Fructanos	Estrés hídrico	Knipp y Honermeier, 2006 Hellwege et al., 2000
TPS1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levadura)	Síntesis de Trehalosa	Retraso de los síntomas de marchitez en estrés por sequía	Stiller et al., 2008
CodA	<i>Arthrobacter globiformis</i> (bacteria)	Síntesis de Glicina-Betaina (GB) en cloroplastos	Aumento en la tolerancia a estrés oxidativo, salino y por sequía	Ahmad et al., 2008
P5CS	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Síntesis de Prolina	Aumento en la tolerancia a estrés salino	Hmida-Sayari et al., 2005
BADH	<i>Spinacia oleracea</i> (espinaca)	Betaina Aldehído Deshidrogenasa involucrada en la síntesis de Glicina-Betaina	Incremento en la tolerancia a estrés salino y por sequía	Zhang et al., 2011
mtID	<i>Escherichia coli</i> (bacteria)	Biosíntesis de manitol	Aumento en la tolerancia a estrés salino	Rahnama et al., 2011
GalUR	<i>Fragaria x ananassa</i> (frutilla)	Biosíntesis de ascorbato (Vit C)	Mayor tolerancia en condiciones de estrés oxidativo y salino.	Upadhyaya et al., 2011 Upadhyaya et al., 2009

Continuación Tabla 4.1. Genes relacionados con estrés abiótico evaluados en papas transgénicas.

Gen	Origen	Función	Tolerancia a estrés abiótico	Referencias
desA	<i>Synechocystis</i> sp. (Cianobacteria)	Enzima $\Delta 12$ -desaturasa (desA) involucrada en la síntesis de ácido linoleico	Mayor tolerancia a bajas temperaturas (7°C)	Amiri et al., 2010
GR1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Enzima glutatión reductasa (GR) involucrada en la síntesis de glutatión	Mayor tolerancia a estrés oxidativo y por metales pesados (Cadmio)	Eltayeb et al., 2010
<b>Otros genes</b>				
Cu/Zn SOD superoxide dismutases	<i>Lycopersicon esculentum</i> (tomate)	Incremento en la defensa frente a estrés oxidativo	Tolerancia a estrés osmótico y por sequía	Perl et al., 1993
MSP-As	<i>Solanum Tuberosum</i> (papa)	Proteína estabilizadora de Manganese (MSP) componente del Fotosistema II.	Papas transgénicas con reducidos niveles de MSP-As presentan mayor tolerancia a estrés osmótico, salino y toxicidad por metales pesados	Gururani et al., 2013 Gururani et al., 2012
A1DHAR1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Integridad de membrana y protección frente a la degradación de clorofila mediante la remoción rápida de $H_2O_2$	Incremento en la tolerancia a estrés por herbicida, sequía y estrés salino	Eltayeb et al., 2011
PaSOD	<i>Potentilla atrosanguinea</i> (flor)	Cataliza la dismutación del radical superóxido ( $O_2^-$ ) en $H_2O_2$ y $O_2$	Mayor tolerancia en estrés por sequía	Pal et al., 2013
2-Cys Prx	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Enzima 2-cisteína peroxidoxina involucrada en la remoción de peróxidos y protección de membrana	Aumento en la tolerancia a estrés oxidativo y por altas temperaturas	Kim et al., 2011



## HERRAMIENTAS UTILIZADAS EN EL ESTUDIO DE GENES RELEVANTES PARA LA TOLERANCIA Y LA ADAPTACIÓN DE LAS PLANTAS A ESTRÉS ABIÓTICO Y ALGUNOS EJEMPLOS EN PAPAS

El principal objetivo de la mayoría de los estudios de la funcionalidad de genes asociados a estrés abiótico ha sido entender este tipo de estrés a nivel molecular e identificar genes relevantes para la tolerancia y adaptación de las plantas ya sea a sequía o temperaturas extremas entre otros. El uso de herramientas genómicas y su asociación con la respuesta fisiológica de la tolerancia a estrés abiótico, permitirá diseños más apropiados para futuros programas de mejoramiento en papa.

Actualmente cientos de genes han sido caracterizados y asociados a diferentes tipos de estrés en plantas. Esta información ha mejorado significativamente con la consolidación de los “Proyectos Genomas” en 35 especies vegetales, siendo la papa una de ellas (<http://www.sgn.cornell.edu/>). Desde el año 2006, el Consorcio de Secuenciación del Genoma de la Papa (PGSC) ha trabajado en dilucidar la secuencia completa de ADN en esta especie. El Consorcio PGSC, en el cual participa nuestro país, ha logrado grandes avances en el tema permitiendo disponer hoy del 95% de los genes de la papa (*S. tuberosum* grupo Phureja), con una cobertura de 70x, actualmente disponible para el público en el link [www.potatogenome.net](http://www.potatogenome.net) (Potato Genome Sequencing Consortium, 2011). Para que esta información sea útil en futuras aplicaciones en el mejoramiento de la papa, es fundamental determinar la función que desempeña cada secuencia del genoma, es decir, identificar cada uno de sus genes y conocer su función.

La identificación de genes asociados a estrés abiótico se ha basado principalmente en la búsqueda de vinculaciones génicas por homología mediante la comparación de secuencias, y en la identificación de determinadas características comunes (señales funcionales, patrones y dominios). Para la búsqueda de genes, existen tres importantes bases de datos internacionales (EMBL-Bank, DDBJ y GenBank de

NCBI), las cuales recopilan todas las secuencias caracterizadas de nucleótidos que son de dominio público. Las tres bases de datos son accesibles gratuitamente por internet y se sincronizan entre ellas cada 24 horas, por lo que contienen exactamente la misma información ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). A través de estas bases de datos es posible acceder a ESTs (por su sigla en inglés, Expressed Sequence Tag) o secuencias ORF (por su sigla en inglés, Open Reading Frame), obtenidas a partir de plántulas, órganos o tejidos sometidos a distintos tratamientos de estrés abiótico.

Otras aproximaciones que permiten identificar genes con respecto a su función, es la técnica de PCR en tiempo real. Esta metodología permite cuantificar la expresión de los genes mediante el uso de sondas fluorescentes en la amplificación de los transcritos de interés con respecto a genes de expresión constitutiva. A través de esta técnica es posible cuantificar genes específicos a partir de muestras de ARN mensajero provenientes de diferentes condiciones experimentales (Bustin *et al.*, 2005; Dorak, 2006). Su amplio uso en investigación se debe principalmente a la simplicidad de la técnica, especificidad y alta sensibilidad en la cuantificación de los niveles de expresión génica (mayor información en plataforma [www.gene-quantification.de](http://www.gene-quantification.de)). En papas, el uso de PCR en tiempo real ha permitido relacionar distintos procesos fisiológicos de tolerancia a estrés abiótico con la expresión de genes involucrados en la percepción del estrés, la transducción de señales, la regulación y expresión de genes efectores.

A diferencia del análisis específico acotado a algunos genes, que permite la técnica de PCR en tiempo real, el uso de los **micro y macro arreglos**, ha permitido el análisis simultáneo de miles de genes en condiciones experimentales distintas. Como, por ejemplo, tejidos de plantas estresadas con respecto a no estresadas (controles) en diferentes estados de desarrollo (Chen *et al.*, 2002; Oh *et al.*, 2005; Sreenivasulu *et al.*, 2007). La versatilidad de esta técnica se basa en la capacidad de las moléculas complementarias de ADN de hibridar entre sí, permitiendo establecer perfiles de expresión diferencial utilizando sondas fluorescentes y una pequeña matriz sólida (Seki *et al.*, 2009). Investigaciones realizadas usando micro arreglos en papa con sobre 12.000 clones de cDNA, han permitido capturar

el perfil de expresión de plántulas sometidas a estrés por frío, altas temperaturas y salino en distintos tiempos y distintos tejidos (raíces y hojas). Los datos obtenidos han permitido identificar cientos de genes relacionados con los distintos tipos de estrés abiótico, muchos de ellos desconocidos, generando nuevas interrogantes para responder en futuros estudios de investigación genética en papas (Rensink *et al.*, 2005; Carvallo *et al.*, 2011).

La transformación genética (transgénesis,) es otra herramienta que permite desarrollar plantas tolerantes a estrés abiótico, esta técnica permitirá comprender si la expresión de diferentes tipos de genes puede incrementar la tolerancia a un determinado estrés, o concluir si los cultivares obtenidos vía transformación genética son verdaderamente tolerantes desde el punto de vista agronómico. Sin embargo, es importante considerar que la transgénesis, con casi 30 años de desarrollo, aún presentan dificultades en lograr la correcta inserción del gen de interés en el lugar exacto. Más allá de eso, lograr el perfecto equilibrio entre promotores/silenciadores y la regulación de la expresión en todo el genoma aun es un desafío. Actualmente, las nuevas tecnologías apuntan a sintetizar de novo segmentos de la molécula de ADN, empaquetarla en el equivalente a un microcromosoma artificial e introducirlo al genoma de interés (Montoya *et al.*, 2014). Sin embargo, dado que la tolerancia a estrés abiótico es regulada por varios genes, la transformación genética con varios genes es uno de los actuales desafíos de la ingeniería genética.

El silenciamiento génico post-transcripcional, o también conocido como ARN de interferencia (ARNi), es un mecanismo natural que ocurre en plantas y en la mayoría de eucariontes como parte del proceso de regulación génica. El conocimiento de este mecanismo celular y su manipulación, han permitido dirigir el silenciamiento de genes de manera específica, permitiendo discriminar genes claves para procesos de interés como es la tolerancia a estrés abiótico (Jagtap *et al.*, 2011). Mediante esta técnica, cualquier gen del que se conozca su secuencia nucleotídica puede ser diana para el diseño de ARNi, constituyendo una potente herramienta en el estudio de la función de genes en procesos fisiológicos de tolerancia a estrés abiótico. En papas, a través de ARNi se silenció la expresión del

gen caroteno dioxigenasa en papas (CCD4) identificando su rol en la respuesta a estrés por altas temperaturas (Campbell *et al.*, 2010). Este tipo de análisis permite conocer además si la regulación génica es controlada al nivel de la transcripción, traducción, si es una modificación pos-traducciona l o por acumulación de proteínas.

La identificación de mutantes, especialmente mutantes de inserción, alterados en el nivel de tolerancia a la sequía, pueden ser particularmente útiles en la identificación de genes claves o esenciales involucrados en diferentes mecanismos de tolerancia. Actualmente, el esfuerzo en conjunto de varios centros de investigación (TAIR, ABRC y SIGnal) ha permitido disponer de un banco de mutantes insercionales en *Arabidopsis thaliana* con libre acceso y sin costo asociado. La colección es sustentada por donaciones de investigadores de todas partes del mundo que incluyen un stock de cerca de un millón de semillas con mutaciones puntuales generadas por la inserción de un ADN-T o transposon en genes específicos, cubriendo el 95,3% de los genes descritos en *Arabidopsis* (<http://signal.salk.edu/>). El análisis fenotípico y molecular de aquellos mutantes en *Arabidopsis* que presenten variaciones en la tolerancia a estrés abiótico, permite identificar genes de interés en otras especies vegetales, como en papa, a través del análisis de homología y comparación en sus secuencias nucleotídicas. Estudios fisiológicos más profundos y el uso de aproximaciones proteómicas o de transcriptomas para esos mutantes podrían proveer información de gran valor en el tipo de proceso fisiológico que alteran.

Así, el uso de herramientas genómicas y su asociación con la respuesta fisiológica de la tolerancia a estrés abiótico con el mejoramiento convencional, permitirá diseños más apropiados para futuros programas de mejoramiento en papa.

## LITERATURA CONSULTADA

- Ahmad, R., Kim, M. D., Back, K. H., Kim, H. S., Lee, H. S., Kwon, S.Y., Murata, N., Chung, W-II., and Kwak, S. S. (2008).** Stress-induced expression of choline oxidase in potato plant chloroplasts confers enhanced tolerance to oxidative, salt, and drought stresses. *Plant Cell Reports*, 27(4), 687-698.
- Allagulova, C. R., Gimalov, F. R., Shakirova, F. M., and Vakhitov, V. A. (2003).** The plant dehydrins: structure and putative functions. *Biochemistry (Moscow)*, 68(9), 945-951.
- Amiri, R. M., Yur'eva, N. O., Shimshilashvili, K. R., Goldenkova-Pavlova, I. V., Pchelkin, V. P., Kuznitsova, E. I., Tsydendambaev, V. D., Trunova, T. I., Los, D. A., Jouzani, G. S., and Nosov, A. M. (2010).** Expression of Acyl-lipid  $\Delta 12$ -desaturase Gene in Prokaryotic and Eukaryotic Cells and Its Effect on Cold Stress Tolerance of Potato. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52(3), 289-297.
- Bouaziz, D., Pirrello, J., Charfeddine, M., Hammami, A., Jbir, R., Dhieb, A., Bouzayen, M., and Gargouri-Bouzid, R. (2013).** Overexpression of StDREB1 transcription factor increases tolerance to salt in transgenic potato plants. *Molecular Biotechnology*, 54(3), 803-817.
- Bustin, S. A., Benes, V., Nolan, T., and Pfaffl, M. W. (2005).** Quantitative real-time RT-PCR—a perspective. *Journal of Molecular Endocrinology*, 34(3), 597-601.
- Campbell, R., Ducreux, L. J., Morris, W. L., Morris, J. A., Suttle, J. C., Ramsay, G., Bryan, G.J., Hedley, P.E., and Taylor, M. A. (2010).** The metabolic and developmental roles of carotenoid cleavage dioxygenase4 from potato. *Plant Physiology*, 154(2), 656-664.

- Carvalho, M. A., Pino, M. T., Jeknic, Z., Zou, C., Doherty, C. J., Shiu, S. H., and Thomashow, M. F. (2011).** A comparison of the low temperature transcriptomes and CBF regulons of three plant species that differ in freezing tolerance: *Solanum commersonii*, *Solanum tuberosum*, and *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 62, 3807–3819.
- Charfeddine, S., Saïdi, M. N., Charfeddine, M., and Gargouri-Bouزيد, R. (2015).** Genome-wide identification and expression profiling of the late embryogenesis abundant genes in potato with emphasis on dehydrins. *Molecular Biology Reports*, 42, 1163–1174. doi: 10.1007/s11033-015-3853-2.
- Chen, Y., Kamat, V., Dougherty, E. R., Bittner, M. L., Meltzer, P. S., and Trent, J. M. (2002).** Ratio statistics of gene expression levels and applications to microarray data analysis. *Bioinformatics*, 18(9), 1207-1215.
- Close, T. J. (1997).** Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiologia Plantarum*, 100(2), 291-296.
- Dorak, M. T. (2006).** Real-Time PCR -Advanced Methods Series. Taylor and Francis Group, Oxford. New York. 362pp.
- Eltayeb, A. E., Yamamoto, S., Habora, M. E. E., Matsukubo, Y., Aono, M., Tsujimoto, H., and Tanaka, K. (2010).** Greater protection against oxidative damages imposed by various environmental stresses in transgenic potato with higher level of reduced glutathione. *Breeding Science*, 60(2), 101-109.
- Eltayeb, A. E., Yamamoto, S., Habora, M. E. E., Yin, L., Tsujimoto, H., and Tanaka, K. (2011).** Transgenic potato overexpressing *Arabidopsis cytosolic* AtDHAR1 showed higher tolerance to herbicide, drought and salt stresses. *Breeding Science*, 61(1), 3-10.

- Fraire-Velázquez, S., Rodríguez-Guerra, R., and Sánchez-Calderón, L. (2011).** Abiotic and Biotic Stress Response Crosstalk in Plants. *In: Abiotic Stress Response in Plants - Physiological, Biochemical and Genetic Perspectives*, Arun Shanker and B. Venkateswarlu (Eds.), ISBN: 978-953-307-672-0, InTech, (1) 3-25. <http://www.intechopen.com/books/abiotic-stress-response-in-plants-physiological-biochemical-and-geneticperspectives/>
- Grover, A., Mittal, D., Negi, M., and Lavania, D. (2013).** Generating high temperature tolerant transgenic plants: Achievements and challenges. *Plant Science*, 205, 38-47.
- Gururani, M. A., Upadhyaya, C. P., Strasser, R. J., Woong, Y. J., and Park, S. W. (2012).** Physiological and biochemical responses of transgenic potato plants with altered expression of PSII manganese stabilizing protein. *Plant Physiology and Biochemistry*, 58, 182-194.
- Gururani, M. A., Upadhyaya, C. P., Strasser, R. J., Yu, J. W., and Park, S. W. (2013).** Evaluation of abiotic stress tolerance in transgenic potato plants with reduced expression of PSII manganese stabilizing protein. *Plant Science*, 198, 7-16.
- Hellwege, E. M., Czaplá, S., Jahnke, A., Willmitzer, L., and Heyer, A. G. (2000).** Transgenic potato (*Solanum tuberosum*) tubers synthesize the full spectrum of inulin molecules naturally occurring in globe artichoke (*Cynara scolymus*) roots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(15), 8699-8704.
- Hmida-Sayari, A., Gargouri-Bouزيد, R., Bidani, A., Jaoua, L., Savouré, A., and Jaoua, S. (2005).** Overexpression of  $\Delta$  1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers salt tolerance in transgenic potato plants. *Plant Science*, 169(4), 746-752.

- Hu, X. J., Zhang, Z. B., Xu, P., Fu, Z. Y., Hu, S. B., and Song, W. Y. (2010).** Multifunctional genes: the cross-talk among the regulation networks of abiotic stress responses. *Biologia Plantarum*, 54(2), 213-223.
- Jagtap, U. B., Gurav, R. G., and Bapat, V. A. (2011).** Role of RNA interference in plant improvement. *Naturwissenschaften*, 98(6), 473-492.
- Kim, M. D., Kim, Y. H., Kwon, S. Y., Jang, B. Y., Lee, S. Y., Yun, D. J., Cho, J-H., Kwak, S-S., and Lee, H. S. (2011).** Overexpression of 2-cysteine peroxiredoxin enhances tolerance to methyl viologen-mediated oxidative stress and high temperature in potato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(8), 891-897.
- Knipp, G., and Honermeier, B. (2006).** Effect of water stress on proline accumulation of genetically modified potatoes (*Solanum tuberosum* L.) generating fructans. *Journal of Plant Physiology*, 163(4), 392-397.
- Kobayashi, F., Takumi, S., Kume, S., Ishibashi, M., Ohno, R., Murai, K., and Nakamura, C. (2005).** Regulation by Vrn-1/Fr-1 chromosomal intervals of CBF-mediated Cor/Lea gene expression and freezing tolerance in common wheat. *Journal of Experimental Botany*, 56(413), 887-895.
- Kume, S., Kobayashi, F., Ishibashi, M., Ohno, R., Nakamura, C., and Takumi, S. (2005).** Differential and coordinated expression of Cbf and Cor/Lea genes during long-term cold acclimation in two wheat cultivars showing distinct levels of freezing tolerance. *Genes and Genetic Systems*, 80(3), 185-197.
- Lavana, D., Dhingra, A., Siddiqui, M. H., Al-Wahaibi, M. H., and Grover, A. (2015).** Current status of the production of high temperature tolerant transgenic crops for cultivation in warmer climates. *Plant Physiology and Biochemistry*, 86, 100-108.



- Liu, X., Wang, Z., Wang, L., Wu, R., Phillips, J., and Deng, X. (2009).** LEA 4 group genes from the resurrection plant *Boea hygrometrica* confer dehydration tolerance in transgenic tobacco. *Plant Science*, 176(1), 90-98.
- Mahajan, S., and Tuteja, N. (2005).** Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444(2), 139-158.
- Montoya, C., Ávila, K., Reyes, P., Navia, M., and Romero, H. M. (2014).** Secuenciación del genoma de las especies vegetales: implicaciones y perspectivas. *Revista Palmas*, 35(3), 11-22.
- Movahedi, S., Tabatabaei, B. S., Alizade, H., Ghobadi, C., Yamchi, A., and Khaksar, G. (2012).** Constitutive expression of Arabidopsis DREB1B in transgenic potato enhances drought and freezing tolerance. *Biologia Plantarum*, 56(1), 37-42.
- Nakashima, K., Ito, Y., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2009).** Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and grasses. *Plant Physiology*, 149(1), 88-95.
- Nakashima, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K. (2014).** The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses including drought, cold, and heat. *Frontiers in Plant Science*, 5, 170. <http://doi.org/10.3389/fpls.2014.00170>.
- Oh, S. J., Song, S. I., Kim, Y. S., Jang, H. J., Kim, S. Y., Kim, M., Kim, Y.K, Nahm, B.H., and Kim, J. K. (2005).** Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 intragenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth. *Plant Physiology*, 138(1), 341-351.
- Olvera-Carrillo, Y., Campos, F., Reyes, J. L., Garcarrubio, A., and Covarrubias, A. A. (2010).** Functional analysis of the group 4 late embryogenesis abundant proteins reveals their relevance in the adaptive response during water deficit in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 154(1), 373-390.

- Pal, A. K., Acharya, K., Vats, S. K., Kumar, S., and Ahuja, P. S. (2013).** Over-expression of PaSOD in transgenic potato enhances photosynthetic performance under drought. *Biologia Plantarum*, 57(2), 359-364.
- Peleg, Z., and Blumwald, E. (2011).** Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(3), 290-295.
- Perl, A., Perl-Treves, R., Galili, S., Aviv, D., Shalgi, E., Malkin, S., and Galun, E. (1993).** Enhanced oxidative-stress defense in transgenic potato expressing tomato Cu, Zn superoxide dismutases. *Theoretical and Applied Genetics*, 85(5), 568-576.
- Pino, M. T., Skinner, J. S., Park, E. J., Jeknic, Z., Hayes, P. M., Thomashow, M. F., and Chen, T. H. (2007).** Use of a stress inducible promoter to drive ectopic AtCBF expression improves potato freezing tolerance while minimizing negative effects on tuber yield. *Plant Biotechnology Journal*, 5(5), 591-604.
- Pino, M. T., Skinner, J. S., Jeknic, Z., Hayes, P. M., Soeldner, A. H., Thomashow, M. F., and Chen, T. H. (2008).** Ectopic AtCBF1 over-expression enhances freezing tolerance and induces cold acclimation-associated physiological modifications in potato. *Plant, Cell and Environment*, 31(4), 393-406.
- Pino, M. T., Ávila, A., Molina, A., Jeknic, Z., and Chen, T.H.H. (2013).** Enhanced *in vitro* drought tolerance of *Solanum tuberosum* and *Solanum commersonii* plants overexpressing the ScCBF1 gene. *Cien. Inv. Agr*, 40, 171-184.
- Potato Genome Sequencing Consortium. (2011).** Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature*, 475(7355), 189-195.
- Rahnama, H., Vakilian, H., Fahimi, H., and Ghareyazie, B. (2011).** Enhanced salt stress tolerance in transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* L.) expressing a bacterial mtID gene. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(4), 1521-1532.

- Rensink, W. A., Iobst, S., Hart, A., Stegalkina, S., Liu, J., and Buell, C. R. (2005).** Gene expression profiling of potato responses to cold, heat, and salt stress. *Functional and Integrative Genomics*, 5(4), 201-207.
- Saibo, N. J., Lourenço, T., and Oliveira, M. M. (2009).** Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. *Annals of Botany*, 103(4), 609-623.
- Sakuma, Y., Maruyama, K., Qin, F., Osakabe, Y., Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2006).** Dual function of an Arabidopsis transcription factor DREB2A in water-stress-responsive and heat-stress-responsive gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(49), 18822-18827.
- Schafleitner, R., Gutierrez, R., Espino, R., Gaudin, A., Pérez, J., Martínez, M., Domínguez, A., Tincopa, L., Alvarado, C., Numberto, G., and Bonierbale, M. (2007).** Field screening for variation of drought tolerance in *Solanum tuberosum* L. by agronomical, physiological and genetic analysis. *Potato Research*, 50(1), 71-85. doi: 10.1007/s11540-007-9030-9.
- Seki, M., Okamoto, M., Matsui, A., Kim, J. M., Kurihara, Y., Ishida, J., Morosawa, T., Kawashima, M., To, T., and Shinozaki, K. (2009).** Microarray analysis for studying the abiotic stress responses in plants. *In: Molecular techniques in crop improvement*. Jain, S.M. and Brar, D.S. (Eds), Springer, Amsterdam, The Netherlands, 333-355.
- Shin, D., Moon, S. J., Han, S., Kim, B. G., Park, S. R., Lee, S. K., Yoon, H.-J., Lee, H.E., Kwon, H.-B., Baek, D., Yi, B.Y., and Byun, M. O. (2011).** Expression of StMYB1R-1, a novel potato single MYB-like domain transcription factor, increases drought tolerance. *Plant Physiology*, 155(1), 421-432.
- Sreenivasulu, N., Sopory, S. K., and Kishor, P. K. (2007).** Deciphering the regulatory mechanisms of abiotic stress tolerance in plants by genomic approaches. *Gene*, 388(1), 1-13.

- Stiller, I., Dulai, S., Kondrák, M., Tarnai, R., Szabó, L., Toldi, O., and Bánfalvi, Z. (2008).** Effects of drought on water content and photosynthetic parameters in potato plants expressing the trehalose-6-phosphate synthase gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Planta*, 227(2), 299-308.
- Tang, L., Kim, M. D., Yang, K. S., Kwon, S. Y., Kim, S. H., Kim, J. S., Yun, D.J., Kwak, S.S., and Lee, H. S. (2008).** Enhanced tolerance of transgenic potato plants overexpressing nucleoside diphosphate kinase 2 against multiple environmental stresses. *Transgenic Research*, 17(4), 705-715.
- Tran, L. S. P., Nakashima, K., Sakuma, Y., Osakabe, Y., Qin, F., Simpson, S. D., Maruyama, K., Fujita, Y., Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2007).** Co-expression of the stress-inducible zinc finger homeodomain ZFHD1 and NAC transcription factors enhances expression of the ERD1 gene in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 49(1), 46-63.
- Tuteja, N. (2007).** Abscisic acid and abiotic stress signaling. *Plant Signaling and Behavior*, 2(3), 135-138.
- Upadhyaya, C. P., Young, K. E., Akula, N., Kim, H., Heung, J. J., Oh, O. M., Aswath, C.R., Chun, S.C., Kim, D.H., and Park, S. W. (2009).** Over-expression of strawberry D-galacturonic acid reductase in potato leads to accumulation of vitamin C with enhanced abiotic stress tolerance. *Plant Science*, 177(6), 659-667.
- Upadhyaya, C. P., Venkatesh, J., Gururani, M. A., Asnin, L., Sharma, K., Ajappala, H., and Park, S. W. (2011).** Transgenic potato over-producing L-ascorbic acid resisted an increase in methylglyoxal under salinity stress via maintaining higher reduced glutathione level and glyoxalase enzyme activity. *Biotechnology Letters*, 33(11), 2297-2307.

- Wang, Y., Jiang, J., Zhao, X., Liu, G., Yang, C., and Zhan, L. (2006).** A novel LEA gene from *Tamarix androssowii* confers drought tolerance in transgenic tobacco. *Plant Science*, 171(6), 655-662.
- Watkinson, J. I., Hendricks, L., Sioson, A. A., Vasquez-Robinet, C., Stromberg, V., Heath, L. S., Schuler, M., Bohnert, H.J., Bonierbale, M., and Grene, R. (2006).** Accessions of *Solanum tuberosum ssp. andigena* show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. *Plant Science*, 171(6), 745-758.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K. (1994).** A novel cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress. *The Plant Cell*, 6(2), 251-264.
- Youm, J. W., Jeon, J. H., Choi, D., Yi, S. Y., Joung, H., and Kim, H. S. (2008).** Ectopic expression of pepper CaPF1 in potato enhances multiple stresses tolerance and delays initiation of *in vitro* tuberization. *Planta*, 228(4), 701-708.
- Zhang, N., Si, H. J., Wen, G., Du, H. H., Liu, B. L., and Wang, D. (2011).** Enhanced drought and salinity tolerance in transgenic potato plants with a BADH gene from spinach. *Plant Biotechnology Reports*, 5(1), 71-77.