

Eugenio Pérez Molphe Balch
M. en C. Biología
Centro Básico, Depto. de Química
Programa de Investigaciones Biológicas

INDUCCION DE LA SINTESIS DE PROTEINAS ESPECIFICAS COMO RESPUESTA A LA SEQUIA Y SALINIDAD DEL SUELO EN PLANTAS

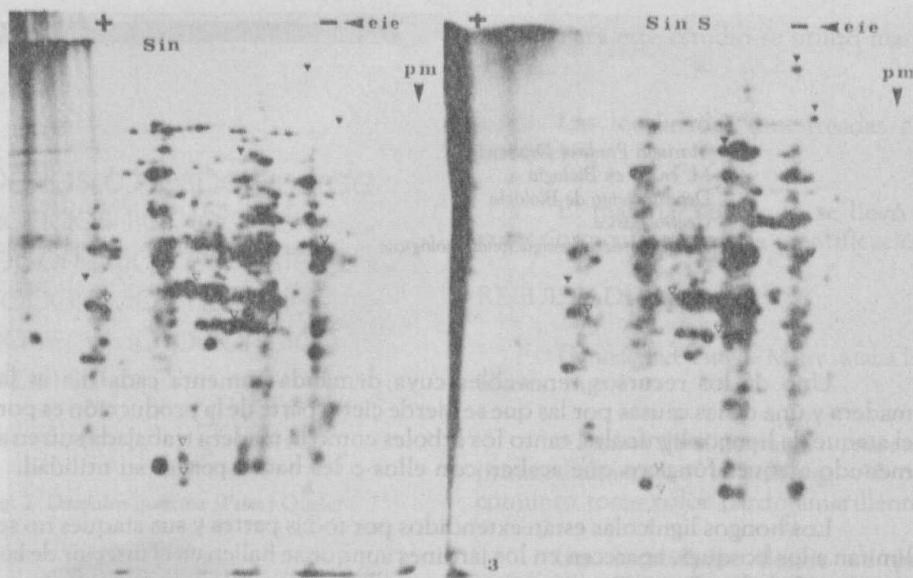
Frecuentemente las plantas se ven sometidas a condiciones ambientales que no son las ideales para su desarrollo óptimo, sin embargo, en la mayoría de los casos, estos fenómenos adversos no llegan a ser fatales para ellas. Esto se da gracias a que las plantas cuentan con mecanismos de defensa muy eficientes para hacer frente a los diversos tipos de estrés ambiental.

Las respuestas de los vegetales ante las condiciones adversas se dan desde el nivel fenológico hasta el bioquímico, pasando por las adaptaciones de tipo morfológico y fisiológico.

Una de las respuestas a nivel bioquímico más notable, es la síntesis preferencial de algunas proteínas, lo que origina cambios en los patrones proteicos de la planta. Esta síntesis de proteínas de respuesta se ha observado ante varios fenómenos ambientales adversos, como: Altas y bajas temperaturas, anaerobiosis, salinidad del suelo, déficit hídrico (sequía), luz ultravioleta y metales pesados (1). De estos fenómenos mencionados, quizá los que tienen un efecto más nocivo para las plantas, sobre todo desde el punto de vista agrícola, son la sequía y salinidad del suelo. La síntesis de proteínas específicas como respuesta ante la sequía y salinidad del suelo se descubrió primeramente en tabaco (2). En esta especie se aisló y secuenció la osmotina, proteína así llamada por su característica de ser inducida por un estrés de tipo osmótico, ya sea sequía o salinidad (3). Posteriormente se pudo aislar el gen que codifica para esta proteína y se estudió la regulación del mismo. Se sabe que dicho gen está regulado a nivel transcripcional (síntesis de ARN mensajero) por los niveles de ácido abscísico en la célula. Este regulador del crecimiento está involucrado en la mayoría de las respuestas de la planta ante el estrés. El otro nivel de regulación del gen de la osmotina, es el traduccional (síntesis de la proteína dirigida por el ARN mensajero), y éste está

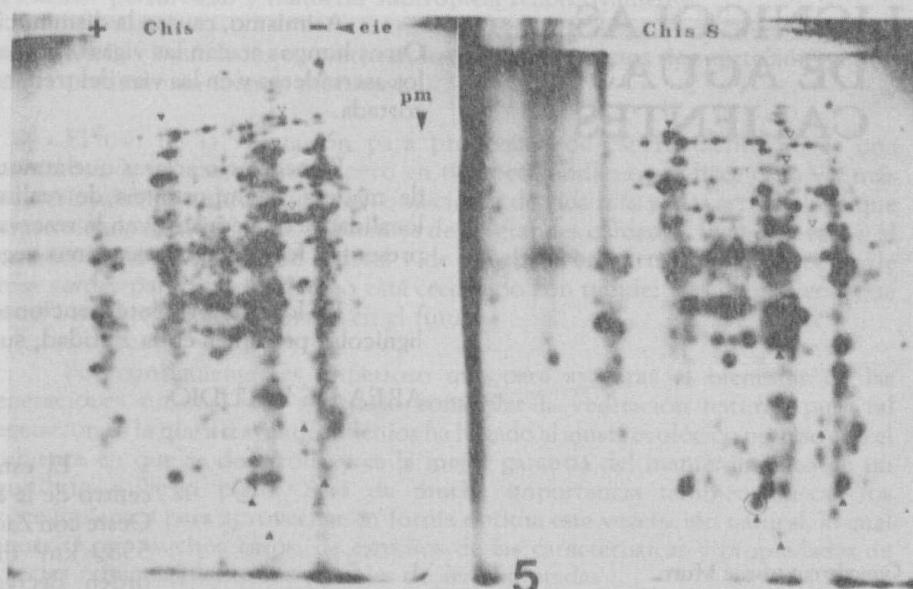
determinado por el estrés osmótico mismo (4). Hasta hoy se desconoce el papel exacto de la osmotina dentro del mecanismo de respuesta de la planta ante la sequía y salinidad, sin embargo se sabe que hay una fuerte correlación entre la acumulación de osmotina y la estabilidad de la tolerancia ante estos fenómenos (5). Además de los estudios mencionados, se han hecho otros en cebada, jitomate, arroz, naranjo, etc. En total se tienen aislados y estudiados hasta hoy 24 genes vegetales regulados por el ácido abscísico, de los cuales al menos 7 de ellos responden también al estrés osmótico (6).

Para estudiar las proteínas de respuesta ante sequía y salinidad, primeramente se deben identificar aquellas cuya síntesis se induce o incrementa por dichos fenómenos. Esto se logra analizando los patrones de síntesis proteica, comparando los de plantas normales, con los de plantas sometidas a algún tratamiento de sequía o salinidad. A nivel experimental la sequía puede simularse añadiendo polietilenglicol (PEG) al medio de cultivo de la planta. El polietilenglicol es un polímero orgánico inerte que reduce la cantidad de agua disponible para la planta, causando un déficit hídrico en ella. La salinidad del suelo suele simularse agregando NaCl al medio. Recientemente se han desarrollado dos técnicas, que utilizadas en conjunto, nos permiten hacer un análisis bastante preciso de la síntesis de proteínas en cualquier tejido u organismo. La primera de dichas técnicas es la electroforesis de dos dimensiones. Esta nos permite separar las proteínas contenidas en un extracto cualquiera mediante dos criterios independientes, lo que nos da un poder de resolución máximo. En la primera dimensión las proteínas se separan de acuerdo a su carga eléctrica neta, la cual está dada por el balance entre sus aminoácidos básicos y los ácidos, a este proceso se le llama enfoque isoelectrico. En la segunda dimensión las proteínas se separan de acuerdo a su peso molecular. La otra técnica mencionada es el marcaje in vivo de proteínas. Este consiste en obligar a una planta o tejido vivo a incorporar en su síntesis proteica un aminoácido marcado radioactivamente, el cual suele ser metionina marcada con ^{35}S , o bien leucina marcada con tritio. La radioactividad así incorporada en las proteínas nos permiten detectarlas fácilmente, aun cuando su cantidad sea mínima. La detección se hace exponiendo los genes de electroforesis a una placa de rayos X.



La importancia de este tipo de estudios radica en la posible aplicación de los conocimientos que de ellos se logren, en la lucha por obtener variedades vegetales con una mayor tolerancia ante fenómenos ambientales de la importancia de la sequía y la salinidad del suelo.

Para ejemplificar el tipo de estudio mencionado antes, se muestran los resultados de un experimento de marcaje in vivo, seguido por electroforesis de dos dimensiones (Fig. 1 y 2). En la figura se ven los patrones de síntesis proteica de plantas control (izquierda) y plantas tratadas con 200 mM de NaCl (derecha), pertenecientes a dos variedades de arroz, llamadas Sinaloa (arriba) y Chiapas (abajo). Cada una de las manchas visibles representa una proteína diferente sintetizada durante el tiempo del marcaje in vivo. De izquierda a derecha de las placas las proteínas están separadas de acuerdo a su carga, de básicas a ácidas respectivamente. De arriba a abajo, las proteínas están separadas de acuerdo a su peso molecular, con las de mayor peso en la parte superior. Con flechas negras se señalan aquellas proteínas inducidas con el tratamiento, mientras que con flechas blancas se marcan aquellas cuya síntesis se detiene como consecuencia del NaCl. Lo que se muestra es el primer paso en el estudio de la posible función de las proteínas de respuesta, en este caso a salinidad, dentro del mecanismo global de defensa de la planta. Asimismo es el principio para posteriores estudios sobre la regulación a nivel genético de la síntesis de las proteínas mencionadas.



Los resultados aquí mostrados a manera de ejemplo son una parte de la tesis de Maestría en Ciencias que se realizó en el Depto. de Ingeniería Genética del CINVESTAV-IPN.

Literatura citada:

- (1) Sachs M. M., Ho T.H.D. (1986). Alteration of gene expression during environmental stress in plants. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 33:163-203.
- (2) Singh N. K. et. al. (1985). Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl. *Plant Physiol.* 79:126-137.
- (3) Singh N. K. et. al. (1987). Characterization of osmotin. *Plant Physiol.* 85:529-536.
- (4) Singh N. K., Bracker C.A. (1989). Molecular cloning of osmotin and regulation of its expression by ABA and adaptation to low water potential. *Plant Physiol.* 90:1096-1101.
- (5) La Rosa P. C. et. al. (1989). Stable NaCl tolerance of tobacco cells is associated with enhanced accumulation of osmotin. *Plant Physiol.* 91:855-861.
- (6) Skriver K, Mundy J. (1990). Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress. *Plant Cell* 2:503-512.