



MEJORAMIENTO DE LA RESISTENCIA A LA SEQUÍA EN LOS CULTIVOS.

Ramón Suárez, Aarón Barraza, Cecilia Calderón, Jose. A. Miranda y Gabriel Iturriaga. Depto. Biotecnología Ambiental, Centro de Investigación en Biotecnología, UAEM. Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. Fax 01-777-3297030. iturri@buzon.uaem.mx

Palabras clave: alfalfa, frijol, trehalosa,

Introducción. Uno de los factores mas limitantes en la producción agrícola es el estrés abiótico (sequía, salinidad, altas y bajas temperaturas). El ajuste osmótico y la acumulación de solutos compatibles es una respuesta común en plantas. La trehalosa, considerada uno de los osmoprotectores mas eficientes, es un disacárido no reductor que se encuentra en distintas especies de bacterias, hongos, invertebrados y plantas (1). Este azúcar es sintetizado también por bacterias de la familia de las *Rhizobiaceas* y ha sido encontrado en los nódulos (2). El uso del fitomejoramiento tradicional ha sido limitado para obtener cultivos resistentes a la sequía.

En el presente trabajo se describen dos estrategias para la obtención de plantas tolerantes a la sequía utilizando genes del metabolismo de trehalosa.

Metodología. Se realizaron dos construcciones: una con el promotor constitutivo 35S y otra con el promotor inducible por estrés abiótico RD29A para la transformación de plantas. Se utilizó como región codificante la fusión de los genes *TPS1-TPS2* (trehalosa-6-fosfato sintasa y trehalosa-6-fosfato fosfatasa) de levadura. Se transformaron plantas de *Arabidopsis thaliana* y alfalfa (*Medicago sativa*), con las cuales se realizaron pruebas de tolerancia al estrés abiótico y se midió la concentración de trehalosa por HPLC. Por otro lado, se generó una cepa sobreexpresante de *Rhizobium etli* con su propio gen *OtsA* que codifica para la TPS. Se realizaron experimentos utilizando *R. etli* en condiciones de vida libre y en simbiosis con plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*). Las plantas inoculadas fueron crecidas tanto en condiciones normales de suministro de agua, así como sometidas a estrés por sequía. Parámetros como la tolerancia al estrés, número de nódulos, actividad de nitrogenasa, biomasa, rendimiento y contenido de trehalosa fueron evaluados y comparados en los distintos tratamientos.

Resultados y discusión. Se obtuvieron varias líneas independientes de *Arabidopsis thaliana* y alfalfa que expresan el gen sintético *TPS1-TPS2* de forma constitutiva o regulada. Las plantas de ambas especies acumulan trehalosa y tienen una morfología y desarrollo normales. La mayoría de las plantas transgénicas son tolerantes a sequía, salinidad, congelamiento y calor (Fig. 1). Utilizando una estrategia distinta, donde las plantas no son transgénicas pero si el simbionte, la cepa de *R. etli* que sobreexpresa el gen *OtsA* acumula trehalosa y es tolerante a salinidad, congelamiento y calor. Las plantas de frijol inoculadas con esta cepa sobreexpresante poseen mayor número de nódulos y de células infectadas, y la actividad de la nitrogenasa y la biomasa se incrementaron. Por otro lado, las plantas inoculadas con la cepa sobreexpresante son tolerantes a la sequía (Fig. 2). Un aspecto relevante es que las plantas de

frijol, además presentan un aumento en el rendimiento (número de semillas por planta) de alrededor del 50%. Todos estos resultados demuestran que la manipulación de la biosíntesis de trehalosa en plantas o en los simbiontes de las leguminosas, permite obtener resistencia la estrés y un aumento significativo en el rendimiento de grano.



Figura 1. Plantas de alfalfa silvestre (izquierda) o transgénicas (centro y derecha) sometidas a deshidratación y rehidratadas.



Figura 2. Plantas de frijol inoculadas con *R. etli* 21 días post-inóculo con la cepa silvestre (izquierda) y la sobreexpresante del gen *OtsA* (derecha).

Conclusiones. El aumento en los niveles de trehalosa en plantas y bacterias simbióticas vía ingeniería genética, confiere tolerancia al estrés abiótico e incrementa el rendimiento de los cultivos.

Bibliografía.

1. Elbein, AD, Pan, YT, Pastuszak, I y Carroll D (2003) New insights on trehalose: a multifunctional molecule. *Glycobiol.* 3: 17R-27R
2. Müller, J, Boller, T y Wiemken, A. (2001). Trehalose becomes the most abundant non-structural carbohydrate during senescence of soybean nodules. *J. Exp. Bot.* 52: 943-947.