



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



PAPEL DEL GEN PARA LA MAPKK CINASA YODA EN LA FUNCIÓN DEL FLOEMA

Angélica Concepción Martínez Navarro, Beatriz Xoconostle-Cázares, Roberto Ruiz-Medrano. CINVESTAV-IPN
Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. México, D. F., C. P. 07360. rmedrano@cinvestav.mx

Palabras clave: floema, MAPKKK, mRNA

Introducción. El tejido vascular de plantas está compuesto por xilema, que tiene la función de transportar agua, sales, iones y en general compuestos de bajo peso molecular y el floema que transporta los fotosintatos de las hojas fuente al resto de la planta. Además de estos compuestos se tiene evidencia del transporte de otras moléculas a través del floema como hormonas, proteínas, RNAs (RNA mensajeros, siRNAs, miRNAs etc.) que podrían ser consideradas señales involucradas en la activación de respuestas sistémicas de la planta ante estímulos ambientales (1,2). Una de estas moléculas es la MAPKKK YODA de *Arabidopsis thaliana* cuyo mRNA homólogo de calabaza fue encontrado en savia de floema (3). A nivel proteína, se sabe que YODA regula la división asimétrica en tipos celulares como estomas, raíces y en la formación del cigoto (4) sin embargo aún se desconoce la función del mensajero en la planta.

El floema maduro está formado por dos tipos celulares producto de la división asimétrica: el elemento criboso y la célula acompañante, ya que se sabe que YODA está involucrada en este proceso además de la presencia del mRNA, en el presente trabajo proponemos determinar el papel de esta MAPKKK en la formación y desarrollo de los tipos celulares que conforman el floema en *Arabidopsis thaliana*, a través del silenciamiento del gen y de un análisis más detallado de su expresión.

Metodología. Se silenciaron plantas de *Arabidopsis thaliana* en el gen YODA utilizando 2 regiones exclusivas del gen (dominio 5' y dominio 3') para el diseño de construcción para silenciar el gen. Se transformaron plantas silvestres con las construcciones de silenciamiento por el método de inmersión floral y transformación transitoria con *Agrobacterium tumefaciens* para el análisis del fenotipo. El análisis de expresión de YODA se realizó por qRT-PCR e hibridación in situ de diferentes tejidos de plantas silvestres de *Arabidopsis thaliana*.

Resultados. Se obtuvieron plantas silenciadas en los dominios 5' y 3' del gen por los dos métodos de transformación. El aparente fenotipo de las plantas es el retraso en su desarrollo siendo más evidente en las plantas silenciadas con el dominio 5' comparando con el control silvestre. El análisis de expresión por qRT-PCR muestra niveles elevados principalmente en ápice, silicuas y flores de 60 días de germinación. Al comparar los niveles del transcrito en hojas y raíces de plantas de

60 días con plantas de 8 días de germinación se observa el alto nivel de expresión de YODA en raíces adultas y la ausencia de éste en raíces jóvenes, a diferencia de esto se observaron que las hojas jóvenes presentan mayor nivel del transcrito a comparación de las hojas adultas. La hibridación in situ mostró la acumulación del mensajero en los diferentes tipos celulares de hojas, tallos, flores maduras e inmaduras, raíces y silicuas.

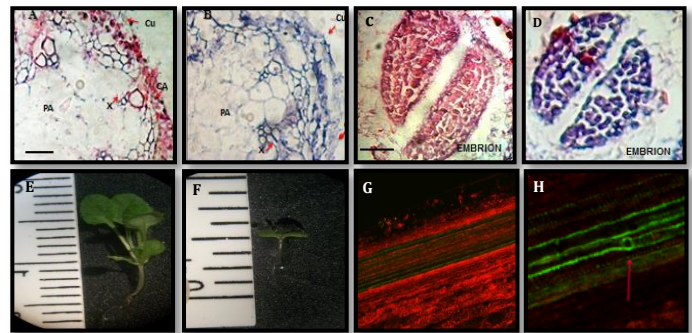


Fig.1. Hibridación *in situ* de Tallo y Silicuas A,C) sentido B, D) antisentido. E) Control WT de *A. thaliana* y F) planta silenciada en dominio 5'. Microscopía confocal de G) Control WT y H) planta transformada con *KNOTTED-GFP* señalando elemento criboso (flecha)

Conclusiones. Se obtuvieron transformantes de *Arabidopsis thaliana* silenciadas en el gen YODA. Es posible expresar genes transitoriamente en *Arabidopsis thaliana* como quedó demostrado con *KNOTTED-GFP*, cuyo RNA y/o proteína es capaz de moverse a larga distancia en la planta. El transcrito de YODA se acumula a mayores niveles en tejido vascular de hoja joven, raíz madura y en ápice. Acumulación de mRNA de YODA en mesófilo, en embriones, y en estructuras florales

Agradecimiento. ACMN es becaria del CONACyT. Esta investigación es financiada por ICyT D.F. a BXC y proyectos CONACyT (105985 a BXC, 50769 a RRM).

Bibliografía

1. Ruiz-Medrano R, Xoconostle-Cázares B, Lucas WJ. (1999). Phloem long-distance transport of CmNACP mRNA: implications for supracellular regulation in plants. *Development* 126:4405-19
2. Lough, T.J., and Lucas, W.J. (2006). Integrative plant biology: Role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57: 203-232.
3. Lough y Lucas, no publicado
4. Petricka J. J., J. M. Van Norman and Ph.N. Benfey. (2009). Symmetry Breaking in Plants: Molecular Mechanisms Regulating Asymmetric Cell Divisions in Arabidopsis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*