



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EVALUACIÓN MOLECULAR Y FISIOLÓGICA DE MAÍZ GENÉTICAMENTE MODIFICADO TOLERANTE A SEQUÍA POR INHIBICIÓN DE TREHALASA

Kenny Alejandra Agreda L, Roberto Ruiz-Medrano, María E. Hidalgo, José L. Cabrera, Beatriz Xoconostle Cázares CINVESTAV del I.P.N. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. México D.F. CP. 07360. bxoconos@cinvestav.mx

Palabras clave: Sequía, Trehalosa, Trehalasa.

Introducción. La Trehalosa (α -D-Glucopiranosil-(1-1)- α -D-glucopiranosido) es un disacárido, ampliamente distribuido en distintos organismos; el cual es utilizado como fuente de carbono en muchos de los organismos, pero también actúa como osmoprotector ante estrés por altas temperaturas, sequía y salinidad; este es hidrolizado por la enzima Trehalasa, lo que disminuye la posibilidad de acumulación de este disacárido para su uso en condiciones de estrés (1). Por lo que se ha propuesto su uso en la generación de una nueva variedad de plantas de interés agronómico que en nuestro caso nos enfocamos a maíz, con el fin de proveerlos de tolerancia a sequía, mediante el uso de un mRNA-antisentido que codifica para esta enzima; permitiendo así su acumulación en plantas de maíz B73 obtenidas de cultivos de callos embriogénicos in-vitro.

Metodología. Las semillas producidas a partir de las plantas regeneradas de callos embriogénicos, fueron germinadas bajo estrés hídrico por medio de la presencia de PEG al 7% y 14%, luego fueron transferidas al invernadero y se crecieron hasta llegar a fase vegetativa media. A las plantas se le realizó medición de talla y parámetros fotosintéticos tanto en condiciones de sequía y humedad (fotosíntesis, contenido interno de H_2O , CO_2 Y % HR) usando el equipo portátil LI-6400XT. También se realizó evaluación molecular mediante la observación de la modulación de Trehalasa en mRNA, la presencia de transgen por Southern blot y PF-PCR, junto con ello se realizó la cuantificación de trehalosa y medición de actividad de Trehalasa.

Resultados. En la realización del seguimiento del crecimiento en talla a lo largo de su desarrollo vegetativo entre los GMs y los no GMs (Fig. 1), se observó diferencias significativas, ya que los GMs presentaron un crecimiento, floración y producción de granos acelerados respecto a los controles. La medición de los parámetros fisiológicos en plantas GMs, presentaron una tasa fotosintética mayor en condiciones de humedad y sequía, al igual que en su contenido interno de CO_2 . Con respecto al contenido de H_2O , se observó que los requerimientos en los GMs son menores respecto a las controles en sequía. También se logró la amplificación del gen de la enzima trehalasa en las plantas GMs, permitiendo corroborar la inserción de una copia del gen de referencia. La estimación de la acumulación del mRNA

por medio de RT-PCR en tiempo real, mostró que si hay una modulación negativa en los OGM; principalmente en condiciones de sequía.



Fig. 1. Medición de parámetros Fisiológicos por comparación entre los B73 no GMs (Control) y los B73 GMs (T1 y T4).

Conclusiones. La inhibición de la enzima trehalasa tiene efectos no solo en la protección contra estrés hídrico, sino también impacta positivamente el crecimiento y fotosíntesis de las plantas de maíz. Respecto a los resultados moleculares se observa que el mRNA de trehalasa está modulando negativamente en un porcentaje solo del 16%.

Agradecimiento. KAAL es becaria del CONACYT. Esta investigación es financiada por CIBIOGEM CONACYT (a BXC).

Bibliografía.

- 1- Gámez, A., Cabrera, J., Herrera, L., Hernández, C., Montes de Oca, R. (2004) *Ciencia UANL* vol (7): 483-489.
- 2- Goddijn O., Verwoerd T., Voogd E., Krutwagen R., Graaf P., Poels J., Dun K., Ponstein A., Damm B., and Pen J. (1997). *Plant Physiol.* vol (113): 181-190.
- 3- Grag, A., Kim J., Owens T., Ranwala A., Choi Y., Kochian L. and Wu R. (2002). *PNAS* vol (99): 15898-15903..
- 4- El-Bashiti T., Hamamci H., Oktem H. and Yücel M. (2005). *Elsevier* vol (169): 47-54.
- 5- Lopez M., Tejera N., Iribarne C., Lluch C., and Herrera J., (2008). *Physiol. Plant.* vol (134): 575- 582.