

COORDINACION DE LA EXPRESION GENETICA EN PLANTAS Y HONGOS. EVIDENCIAS DE TRANSPORTE DE MACROMOLECULAS DE CELULA A CELULA.

Beatriz Xoconostle Cázares, Roberto Ruiz Medrano. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería CINVESTAV IPN. Ave. IPN 2508, Zacatenco México D.F. 5747-7000, ext 4315
beatriz_xoconostle@yahoo.com

proteínas de movimiento, Phycomyces, micorrizas

Introducción. Existen numerosas evidencias experimentales que sugieren que en organismos multicelulares, la comunicación célula a célula y a larga distancia coordina los procesos de diferenciación. Sin embargo, los mecanismos por los cuales ocurre esta regulación son poco conocidos. Se ha descrito el papel fundamental que juegan en estos procesos las hormonas o reguladores de crecimiento, así como otras moléculas de bajo peso. Por otro lado, existen evidencias experimentales que refuerzan la hipótesis de la coordinación de la expresión genética basada en macromoléculas. En este sentido, se han descrito proteínas que tienen la capacidad de transportarse de una célula a otra de una manera selectiva. El movimiento selectivo de estas moléculas fue confirmado por microinyección, así como mediante la utilización de injertos establecidos entre plantas compatibles.

Metodología. Se utilizaron varios modelos para probar el movimiento de macromoléculas: calabaza, jitomate, y el hongo *Phycomyces blakesleeanus*. Para las plantas, se inyectaron o bombardearon proteínas recombinantes nativas marcadas fluorescentemente y se estimó la aparición de fluorescencia asociada a la proteína mediante microscopía de fluorescencia. Adicionalmente y para estimar el movimiento entre dos organismos simbioses, se desarrolla en el laboratorio el sistema micorrízico *jitomate-Glomus intraradices*. Para este último, se ha establecido un sistema de transformación genético para introducir marcadores al hongo y observar el posible movimiento.

Resultados y Discusión. Las proteínas con capacidad de movimiento poseen características particulares, que las asemejan a proteínas de movimiento viral. Estas son proteínas hidrofílicas y se mueven de célula a célula en tiempos cortos. Además se localizan en tejido vascular, específicamente en células del floema. La caracterización de la proteína de 16 kDa de calabaza mostró que es capaz de formar complejos con RNA, sin importar su secuencia. Por otro lado, una proteína de 36 kDa En células de plantas y hongos se pudo observar movimiento de fluorescencia asociada a la proteína CmPP16 cuando fue microinyectada, sin embargo, no se detectó movimiento de la proteína KN-1 de maíz en hongo. Este hecho sugiere que a pesar de que existe una ruta común de transporte, éste depende del péptido en cuestión. Para el movimiento en planta, se

observó que este no posee una distribución radial, y que por contrario, sigue un movimiento por “dominios”, siendo el preferido el que ocurre entre células epidérmicas y no entre células mesófilas. Para analizar en plantas el transporte de macromoléculas a larga distancia, se generaron injertos en plantas de calabaza con pepino. En este sistema se pudieron detectar proteínas y RNA normalmente presentes en el floema de calabaza, pero ahora en la planta injertada.

Para la evaluación de la comunicación entre hongo y planta, utilizando el sistema micorrízico, se están generando hongos transgénicos con genes reporteros en fusión traduccional con proteínas de movimiento. Dado que no se habían reportado sistemas de transformación genética en hongos micorrízicos, se adaptaron metodologías de biobalística y Agro-transformación. Los modelos que se emplean en este estudio son cultivos axénicos de *Glomus intraradices* asociada a raíces transformadas de jitomate y *Pisolithus tinctorius* asociado a plantas de pinos. A la fecha se tienen transformantes estables de hongo y se pretende analizar la expresión de los transgenes, así como el posible movimiento de las proteínas. Se presentarán las evidencias de transformación, así como la aceleración del crecimiento de la asociación micorrízica mediada por compuestos fenólicos de bajo peso molecular.

- Bibliografía.** 1. Kragler, F. Monzer, J., Shash K., Xoconostle-Cázares, B., Lucas, W. J.. Plant Journal. **15**: (1998) 367-381.
2. Xoconostle-Cázares, B., Xiang, Y., Ruiz-Medrano, R., Wang H-L., Monzer, J., Yoo- B-C. , McFarland K.C., Franceschi V. R., Lucas W. J. Science **283**: (1999) 94-98.
3. Ruiz-Medrano, R.; Xoconostle-Cázares, B.; Lucas, W.J. Development. **126**: (1999) 4505-4519.
4. Kragler, F., Monzer J., Xoconostle-Cázares, B., Lucas W. J. (2000). EMBO J. **19**: 2856-2868.
5. Holland N., Holland, D., Helentjaris, T., Kanwarpal, D., Xoconostle-Cázares, B. & Delmer P. D. (2000). Plant Physiol. 123(4):1313-24.
6. Xoconostle-Cazares B, Ruiz-Medrano R, Lucas WJ. (2000). Proteolytic processing of CmPP36, a protein from the cytochrome b(5) reductase family, is required for entry into the phloem translocation pathway. Plant J. 24(6):735-47
7. Ruiz-Medrano R, Xoconostle-Cazares B, Lucas WJ. (2001). Curr Opin Plant Biol. 4(3):202-209.