

eek'

Revista de divulgación científica del COZCyT
Volumen 4 Número. 6 Diciembre 2015 - Enero 2016 Publicación Bimestral eek@cozcyt.gob.mx

4to. Aniversario
Dedicada al Maestro Medel quien
ha regresado a su casa en Cuba

¿Cómo percibimos los colores?

▶ **Bacterias del suelo**
capaces de llevar DNA
exógeno a células de la raíz
en las plantas y causar
transformación genética

▶ **Modelando una estrella**
con la ecuación de
Einstein

▶ **Biografía:**
José Arbol y Bonilla

Revista eek'(ISSN:2007-4565) diciembre 2015 - enero 2016 es una publicación bimestral editada por el Consejo Zacatecano de Ciencia, Tecnología e Innovación (COZCyT). Av. de la Juventud No. 504, Col. Barros Sierra, C.P. 98090, Zacatecas, Zac. MÉXICO. Tel. (492) 921 2816 www.cozcyt.gob.mx, eek@cozcyt.gob.mx. Editora responsable: Gema A. Mercado Sánchez.

Bacterias del suelo

capaces de llevar DNA exógeno a células de la raíz en las plantas y causar transformación genética

Josué Esaú Macías López
esdeagrpa@hotmail.com

Saúl Fraire Velázquez
sfraire@uaz.edu.mx

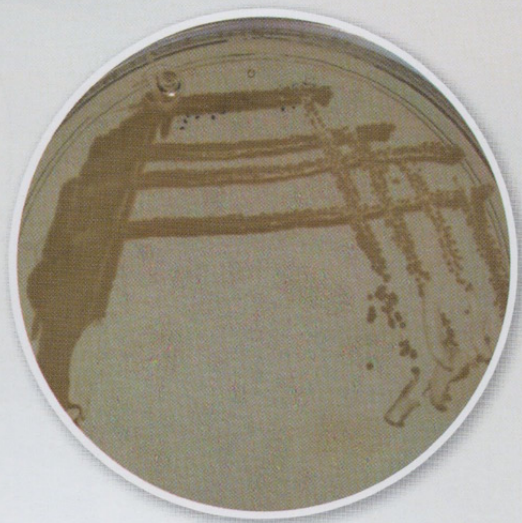
En la naturaleza, las plantas establecen interacción con infinidad de microorganismos principalmente bacterias y hongos, interacciones que son particularmente abundantes en la raíz, órgano que sirve de anclaje al suelo para la absorción de agua y sales minerales. En la rizósfera, una zona estrecha que rodea las raíces de las plantas se constituye como una región densamente poblada de organismos y se considera como uno de los ecosistemas más complejos en el planeta. En la rizósfera coexisten bacterias, hongos, oomicetos, nematodos, protozoarios, algas, arqueas, incluso virus y artrópodos. En el microbioma de la rizósfera no es raro encontrar *Rhizobium rhizogenes* (antes *Agrobacterium rhizogenes*), una bacteria Gram negativa, nativa del suelo, la cual al infectar las raíces de una variedad de especies de plantas induce un fenotipo de "raíces pilosas". El fenotipo de pilosidad en las raíces considerado como una enfermedad, se debe a un cambio en el balance hormonal en el tejido vegetal que conlleva a un patrón de crecimiento de las células de la raíz diferente a lo normal, dando origen a raíces más largas, más numerosas, ramificadas y con crecimiento agravitrópico (no responden a la gravedad).

La bacteria *R. rhizogenes* posee en el citoplasma un plásmido Ri, una molécula de ADN circular de menor tamaño que el propio genoma de la bacteria, llamado Ri porque induce la formación de raíces, las cuales son abundantes y pilosas. En el plásmido Ri se encuentra una región de ADN (T-DNA) que es transferida a células de la planta en la raíz mediante un mecanismo molecular especializado de transferencia, donde participan proteínas codificadas por genes vir desde el mismo ADN plasmídico en la bacteria. Se generan entonces "plantas compuestas" en las cuales solo la raíz o parte de la raíz es transformada, mientras que el resto del tejido vegetal (tallo, hojas y flores) continúa sin ningún cambio genético, y por tanto no se produce flujo de información genética de fragmento del T-DNA a través del polen durante la polinización cruzada entre

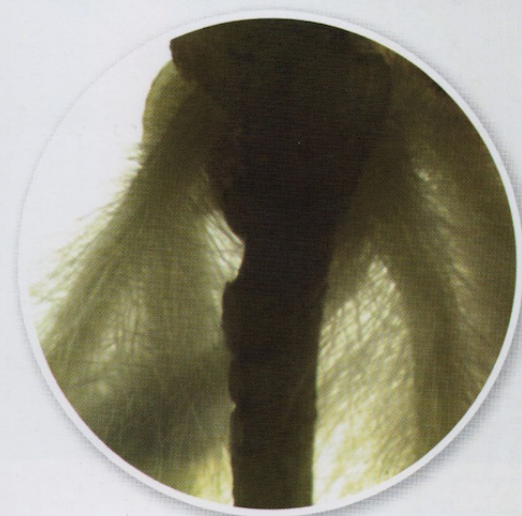
plantas de la especie. Sin embargo, excepciones a esta situación ya han sido documentadas en reportes recientes en *Ipomea batata* que corresponde a la planta conocida como camote y en *Nicotiana tabacum* conocida como tabaco. En el genoma de estas dos especies se han encontrado genes funcionales que provienen del plásmido Ri de *R. rhizogenes*, que en el curso de la evolución fueron transferidos de alguna manera y de forma totalmente natural, en un evento de transformación ancestral sin la intervención de la mano del hombre, y después fijados en el proceso de domesticación [1, 2].

Por otro lado, uno de los genes que son transferidos en el T-DNA desde el plásmido Ri a la célula vegetal en la raíz es *rolB*, y la respectiva proteína *RoIB* con función de *b*-glucosidasa incrementa la concentración del ácido indolacético (IAA) en forma libre y activa mediante su liberación a partir de conjugados de glucosa; y en este mismo sentido, células transgénicas *rolB* muestran mayor sensibilidad a la auxina, otra hormona vegetal que impacta en la regulación del crecimiento y desarrollo de la planta entera. El gen *rolB* tiene una función principal en la morfogénesis de la planta mediante la estimulación de meristemas en una variedad de órganos incluyendo tallos, raíces y flores, de tal manera que plantas transformadas con el gen *rolB* presentan mayor o menor dominancia apical, hojas más anchas, menor inducción y desarrollo de flores, mayor enraizamiento y un fenotipo de plantas de porte bajo (achaparramiento). Estudios recientes en planta de tomate transformada con el gen *rolB* del plásmido Ri de *R. rhizogenes* muestran que el fruto posee una mejoría considerable en la calidad nutricional, se incrementa el licopeno en un 62%, el ácido ascórbico en un 225%, compuestos fenólicos en un 56% y la actividad antioxidante en un 26%, además de que en el follaje se obtiene una mayor tolerancia ante los hongos fitopatógenos *Alternaria solani* y *Fusarium oxysporum* [3].

El T-DNA de los plásmidos Ri incluye genes que codifican para las oncoproteínas *RoIA*, *RoIB*, *RoIC*, *RoID*, *Orf8*, *Orf13* y *Orf14*. Los genes *rolB* y *rolC* transferidos al genoma de células en tejidos de la raíz, se ha documentado que están implicados en la homeostasis de las especies reactivas de oxígeno (radicales libres) pasando por la inducción de genes con función de antioxidantes (enzimas involucradas en la limpieza de radicales libres), y en la expresión de genes de defensa ante patógenos, ej., las proteínas relacionadas con la patogénesis conocidas como proteínas PR [4].



Rhizobium rhizogenes creciendo en medio LB



Raíz de chile transformada con bacteria Rhizobium rhizogenes.



Raíz normal de chile, no transformada.



De esta forma, en términos fisiológicos se produce en la planta un efecto protector de aclimatación a forma de estrés ambiental, que incluye altas y bajas temperaturas, salinidad y ataque de fitopatógenos, lo cual significa mayor tolerancia con acentuación hacia formas de estrés abiótico.

En trabajos de laboratorio en la Unidad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas, al inocular con tres cepas de *R. rhizogenes* y generar transformación en raíz de especies de plantas cultivadas solanáceas y leguminosas y algunas especies silvestres, hemos encontrado que los resultados de eficiencia de transformación pueden llegar al 100% de las plantas inoculadas, y que el número de raíces adventicias transformadas originadas varía notablemente dependiendo del fondo genético en la especie de planta así como en la cepa de bacteria a utilizar; así mismo, la longitud y la pilosidad que se obtienen en las raíces transformadas son caracteres muy variables que correlacionan con combinaciones específicas de especie de planta-cepa bacteriana [5].

Otra ventaja que se obtiene con raíces transformadas con *R. rhizogenes* donde sobresalen nuevamente la función de los genes *rolC* y *rolB*, es la estimulación del metabolismo secundario, característica ampliamente documentada sobre todo en una variedad de especies de plantas con fines medicinales. Entre los metabolitos secundarios producidos están antraquinonas, alcaloides, estilbenos, glicósidos, etc., en donde el nivel de producción se puede incrementar hasta 300 veces más con respecto a la planta normal sin raíces transformadas, niveles que varían dependiendo de la familia, género y especie de la planta [6, 7].

Este proceso natural de transformación en raíces de plantas cultivadas y silvestres, ha sido adaptado en muchos laboratorios de biotecnología en plantas a escala mundial, para desarrollar cultivos de raíces transformadas para producir en cantidad metabolitos secundarios de utilidad industrial y farmacéutica; o incluso, inoculando con la bacteria *Rhizobium radiobacter* (antes conocida como *Agrobacterium tumefaciens*) con plásmido Ti, bacteria muy relacionada con *R. rhizogenes*, para generar plantas transgénicas que hoy en día se cultivan en muchos países desarrollados alrededor del mundo. De interés para la agricultura en latitudes del centro y centro-norte de México, es de resaltar que las plantas con raíces pilosas pueden adquirir el fenotipo de sistema radical con una mayor capacidad para la absorción de nutrientes y de agua, dada la mayor dimensión en volumen y extensión de este tipo de raíces comparadas con plantas con raíces no transformadas. En la Universidad Autónoma de Zacatecas se siguen realizando estudios relacionados con esta bacteria *R. rhizogenes*, tomando en cuenta que las plantas pueden adquirir fácilmente distintas características fenotípicas agrónomicamente importantes, gracias al material genético transferido desde la bacteria.

Referencias

- [1]. Kyndt T, Dora Quispe, Hong Zhai, Robert Jarret, Marc Ghislain, Qingchang Liu, Godefieve Cheysen, and Jan F. Kreuz (2015) The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes. An example of a naturally transgenic food crop. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112(18):5844-5849.
- [2]. Mohajjel-Shoja H, Clement B, Perot J, Alioua M, & Otten L (2011) Biological activity of the *Agrobacterium rhizogenes*-derived *trfC* gene of *Nicotiana tabacum* and its functional relation to other plasmid genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions*: 24(1):44-53.
- [3]. Arshad W, Haq IJ, Waheed MT, Mysore KS, & Mirza B (2014) *Agrobacterium*-mediated transformation of tomato with *rolB* gene results in enhancement of fruit quality and foliar resistance against fungal pathogens. *Plots one* 9(5):96979.
- [4]. Bulgakov VP, Tatiana Y. Gorpenchenko, Galina N. Veremeichik, Yuri N. Shkryl, Galina K. Tchermoded, Dmitry V. Bulgakov, Dmitry L. Aminin, Yuri N. Zhuravlev (2012) The *rolB* gene suppresses reactive oxygen species in transformed plant cells through the sustained activation of antioxidant defense. *Plant Physiology* 158(3):1371-1381.
- [5]. González-Ramos MJ, Díaz-Pérez C, Larsen J, Islas-Flores I, & Fraire-Velázquez S (2014) Transformación en chile con *Rhizobium rhizogenes* y cambios en la interacción con agente avirulento y en la expresión de un gen tipo receptor-proteína cinasa. III Simposio Nacional Herramientas de Biotecnología y Agricultura Sustentable, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, pp 271-276.
- [6]. Bulgakov VP, Tatiana Y. Gorpenchenko, Galina N. Veremeichik, Yuri N. Shkryl, Galina K. Tchermoded, Dmitry V. Bulgakov, Dmitry L. Aminin, Yuri N. Zhuravlev (2008) Suppression of reactive oxygen species and enhanced stress tolerance in *Rubia cordifolia* cells expressing the *rolC* oncogene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*: 21(12):1561-1570.
- [7]. Tuan PA, Do Yeon Kwon, Sanghyun Lee, Mariadhas Valan Arasu, Naif Abdullah Al-Dhabi, Nam Il Park, Sang Un Park (2014) Enhancement of chlorogenic acid production in hairy roots of *Platycodon grandiflorum* by over-expression of an *Arabidopsis thaliana* transcription factor *AtPAP1*. *International Journal of Molecular Sciences* 15(8):14743-14752.