

## ¿ES FUNDAMENTAL LA PRESENCIA DEL PI3P PARA LA FORMACION DEL NODULO EN PLANTAS DE FRIJOL?

Javier Heredia Bracamontes, Alan Marín Mariscal, Oscar Martínez Rodríguez, Paulina Rocha Cebrián, Luis Alberto Rosette Iturbe

[colegio@marymount.edu.mx](mailto:colegio@marymount.edu.mx)

**Palabras Clave:** PI3P, *Rhizobium etli*, simbiosis.

**Introducción.** Las plantas, al ser infectadas, normalmente responden con su sistema inmune innato, que consiste en eliminar las células infectadas. Con algunos microorganismos, en cambio, el sistema inmunológico no responde, porque hay una simbiosis entre la planta y la bacteria. Cuando una planta es infectada por microorganismos, éstos se pueden introducir a las células de la planta por endocitosis, desencadenando un proceso de señalización para dirigir al endosoma hacia la vacuola para ser degradado. Una vez dentro de la célula, las bacterias se denominan bacteroides y, en el caso del *Rhizobium etli*, comienza el proceso de la fijación de nitrógeno (1). En el proceso de endocitosis está involucrada una enzima denominada fosfatidil-inositol-3-cinasa (PI3K), responsable de la formación del fosfatidilinositol-3 fosfato (PI3P), el cual está unido a la membrana celular que cubre al endosoma. El PI3P juega un papel crucial en la fusión de membranas. Para demostrar que el PI3P participa activamente en el proceso de simbiosis, se utilizó el plásmido pGreen-35S-YFP-2xFYVE, que contiene la proteína de fusión “Yellow Fluorescent Protein” (YFP), que sirvió como sonda de rastreo para el PI3P (2). El *Rhizobium etli* lleva consigo una proteína rojo fluorescente (DsRed) que permitió observar el camino de la bacteria en el camino a la célula, como también su estado endosomal.

Determinar el papel del PI3P en la simbiosis de *Rhizobium etli* con *Phaseolus vulgaris*.

**Metodología.** Para llevar a cabo este experimento, germinamos semillas de frijol. Una vez que crecieron, las plantas, se inyectaron con una solución de *Agrobacterium*. Unas con la cepa K599 que era el *Agrobacterium* sin el plásmido con el YFP como control, y otras con el *Agrobacterium* con el YFP. Una vez que las raíces del fenotipo del *Agrobacterium* se presentaron, se cortaron los tallos de la planta, y la planta con las raíces transgénicas se trasplantó a hidroponía. Estando en hidroponía, las plantas se infectaron con *R. etli*. Cuando presentaron los nódulos, fenotipo de la infección del *Rhizobium etli*, se cortaron para verlos bajo microscopía confocal.

**Resultados y Discusión.** De las 60 semillas sembradas, sólo el 20% no germinaron. Esto se debe a varios factores, como los que son: la calidad de la semilla, el espacio de crecimiento, etc. De las 25 plantas infectadas con el *A. rhizogenes* que contenía al plásmido pGreen, 17 presentaron las raíces transgénicas. De las plantas infectadas con el control, el 100% obtuvo las raíces transgénicas. La

diferencia con la efectividad de la inoculación se puede deber a diferentes factores que pueden ser: la cantidad de bacteria con la que se inoculó, la imprecisión al inyectar a las plantas, o la humedad en cada planta. En cuanto a las raíces con *R. Etli*, 85% presentaron nódulos. En la figura 1, se puede ver un nódulo infectado correctamente, esto se debe a que es el control, y tiene PI3P libre para la fusión de membranas. En la figura 2 se observa un nódulo vacío, ya que todo el PI3P está siendo utilizado por la proteína fluorescente, y no deja que se lleven a cabo las fusiones de membrana. En la figura 3 se puede apreciar cómo debería ser una infección de *R. etli* ya que es el control, y el PI3P no está secuestrado por la proteína fluorescente. En la figura 4 se puede observar cómo el *R. etli*, que, a comparación con la figura 3, en la que la distribución del *R. etli* es homogénea, se concentra en los lugares donde no hay la proteína con el dominio FYVE, creemos que esto sucede porque está en busca de PI3P libre.

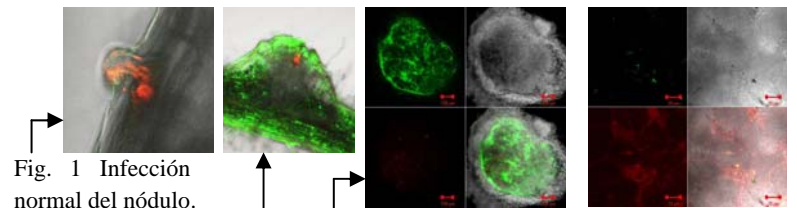


Fig. 1 Infección normal del nódulo.

Fig. 2 Infección anormal del nódulo .

Fig. 3 Distribución homogénea de infección .

Fig. 4 Distribución concentrada de infección .

**Conclusión.** Logramos demostrar que el PI3P es un fosfolípido de vital importancia en la formación del nódulo en raíces, ya que en su ausencia la fusión de membranas y por lo tanto el proceso de infección se ven afectados.

**Agradecimientos.** Agradecemos a nuestros asesores el Dr. Federico Sánchez, la M.B. Georgina Estrada-Navarrete y a la asistente de Microscopía Confocal la QFB. Xochitl Alvarado-Affantranger por su ayuda para poder llevar a cabo este proyecto en el IBT de la UNAM. Asimismo agradecemos a nuestro profesor el Dr. Enrique Galindo.

### Bibliografía.

- Giles, E, Downie, A. (2008). Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. *The Annual Review of Plant Biology*. vol (59): 519-546
- Vermeer, J, Van Leeuwen, W, Tobeña-Santamaría, R, Laxalt, A, jones, D, Divecha, N, Gadella, T, Munnik, T. (2006). Visualization of PtdIns3P dynamics in living plant cells. *The Plant Journal*. vol (47): 687-700