

COMBATIENDO LA SEQUÍA CON FLAVODOXINA

Palabras clave: sequía Flavodoxina Cianobacterias Transgénicos.
Key words: drought Flavodoxin Cyanobacteria Transgenics.

Los episodios de estrés ambiental, especialmente la limitación de agua, representan la principal causa de pérdida de rendimiento en cultivos. Las plantas responden a estas situaciones mediante la expresión diferencial de una red de genes cuyos productos participan en la percepción, señalización, regulación transcripcional y finalmente la defensa ante la situación hostil mediante cambios bioquímicos y fisiológicos. La estrategia de la genética molecular para el mejoramiento de la tolerancia a condiciones ambientales adversas en cultivos se ha basado mayoritariamente en la sobreexpresión de dichos genes endógenos. El grado de éxito ha sido variable ya que se trata de una respuesta multigénica y, en consecuencia, difícil de predecir y manipular. Las cianobacterias, de las que las plantas han evolucionado a través de un proceso de endosimbiosis, han desarrollado estrategias sustitutivas y unigénicas basadas en el reemplazo de proteínas sensibles al estrés por versiones isofuncionales resistentes. Un ejemplo notorio es ferredoxina, el último componente de la cadena transportadora fotosintética. Ferredoxina resulta particularmente susceptible a los desafíos ambientales y ante tales situaciones muchas cianobacterias son capaces de expresar flavodoxina, que sustituye funcionalmente a ferredoxina aunque con menor eficiencia. Aunque el gen de flavodoxina ha desaparecido de las plantas, la reintroducción de una flavodoxina cianobacteriana en cloroplastos de distintas especies vegetales produjo líneas transgénicas con tolerancia aumentada a diversas fuentes de estrés ambiental, incluyendo sequía. Por lo tanto, las estrategias sustitutivas de los microorganismos siguen siendo efectivas en las plantas y esto abre nuevas perspectivas biotecnológicas para combatir el problema de la deficiencia de agua.

■ **Juan José Pierella Karlusich,
Néstor Carrillo***

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario
(IBR-CONICET), Universidad Nacional de Rosario.

* carrillo@ibr-conicet.gov.ar

Environmental stresses, especially water limitation, represent the primary cause of crop yield losses. Plants respond to such situations through the differential expression of a gene network whose products are involved in stress perception, signaling, transcriptional regulation and finally the defense against the hostile situation via biochemical and physiological changes. The strategy of molecular genetics to strengthen stress tolerance in crops has been largely based on over expression of those endogenous genes. The success of this approach has been variable as it is a multigenic response and, consequently, difficult to manipulate. Cyanobacteria, from which plants evolved through a process of endosymbiosis, have developed unigenic, substitutive strategies based on the replacement of stress-vulnerable targets by resistant isofunctional proteins. A notable example is ferredoxin, the terminal acceptor of the photosynthetic electron transport chain. Ferredoxin is particularly susceptible to environmental challenges and, under such situations, many cyanobacteria are able to express flavodoxin which functionally substitutes ferredoxin but with less efficiency. Although the Fld coding gene has been lost from the plant genome, the reintroduction of a cyanobacterial flavodoxin in chloroplasts of different plant species gave rise to transgenic lines with enhanced tolerance to multiple sources of environmental stress, including drought. Therefore, the substitutive responses from microorganisms are still effective in plants and this situation opens new biotechnological perspectives to combat the water deficiency problem.

■ ESTRÉS ABIÓTICO EN PLANTAS

Durante su desarrollo, las plantas deben enfrentar condiciones ambientales adversas tales como deficiencia o excesos de agua o de nutrientes, salinidad, temperaturas extremas (heladas y calor), alta intensi-

dad lumínica, radiación ultravioleta, metales pesados, xenobióticos. Si la magnitud del desafío ambiental supera momentáneamente las líneas de defensa y los mecanismos adaptativos de la planta, se produce una situación de estrés ambiental (abiótico) que resulta en retrasos de crecimiento, menor producción de se-

millas y, eventualmente, la muerte.

El estrés ambiental representa la causa principal de la pérdida de cosechas en todo el mundo y se estima que la disminución de los rendimientos promedios de los principales cultivos es mayor al 50%.

Dentro de los distintos tipos de condiciones adversas, la falta de agua es sin duda la fuente de estrés más común y frecuente. En Argentina, el 53% de su superficie total está formada por tierras secas (áridas, semiáridas y subhúmedas secas) y se alcanza el 70% al sumar a este grupo las áreas subhúmedas húmedas (Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación, SAyDS; www.desertificacion.gob.ar/tema/agua/). A escala global, según estimaciones de las Naciones Unidas 2100 millones de personas viven en tierras secas, que ocupan más del 40% de la superficie del planeta y producen el 44% de las cosechas y abastecen la mitad del ganado. (www.un.org/es/events/desertification_decade/).

Además, la agricultura es la principal actividad humana consumidora de agua, correspondiente al 70% del agua utilizada (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO). www.fao.org/nr/water/aquastat/water_use/indexesp.stm

Las actividades humanas incluyendo las malas prácticas agrícolas, la deforestación indiscriminada y las actividades responsables del cambio climático han agravado esta problemática dado que existe un constante aumento de áreas sometidas a déficit hídrico y salinidad. En la Argentina se estima que el 20% del territorio (60 millones de hectáreas) sufre erosión hídrica o eólica y que cada año 650.000 nuevas hectáreas pasan a esa situación (SAyDS, www.ambiente.gov.ar/?idarticulo=6300). A nivel mundial, el 24% del suelo se está degradando y alrededor de 1.500 millones de personas dependen directamente de estas áreas. Cerca del 20% de los suelos degradados son tierras de cultivo y un 25% pastizales (ONU, www.un.org/es/events/desertification_decade/).

Resulta extremadamente necesaria la reducción de las pérdidas en el rendimiento de los cultivos por estrés ambiental para hacer frente al creciente aumento de las necesidades alimentarias de una población mundial que se estima alcanzará los 9 mil millones de habitantes a mediados de este siglo. Los esfuerzos por satisfacer las demandas de la población en aumento han empujado el cultivo a suelos marginales, donde existe un mayor grado y frecuencia de estrés ambiental.

En este contexto, el desarrollo de nuevos cultivares tolerantes es crucial para mejorar la estabilidad del rendimiento bajo condiciones de estrés ambiental y así garantizar la seguridad alimentaria.

■ ESTRESSES SECUNDARIOS

Si bien cada tipo de estrés abiótico tiene características propias, virtualmente todos derivan siempre en estrés osmótico y estrés oxidativo. Estos dos actúan como estreses secundarios y resultan ser los principales responsables del daño celular y de las inactivaciones bioquímicas.

El estrés osmótico es un desequilibrio en la homeostasis osmótica intracelular que provoca la deshidratación de la célula por la mayor concentración de solutos fuera de ella.

El estrés oxidativo consiste en un aumento significativo de la producción de "especies reactivas del oxígeno" (ERO), y es una consecuencia de la inhibición de la fotosíntesis durante el estrés ambiental. Esto se debe a un desbalance de la fotosíntesis, ya que se reprime la fijación de CO₂ pero la planta sigue recibiendo luz. Como consecuencia la cadena de transporte de electrones se sobre-reduce y en estas condiciones es capaz de ceder electrones directamente al oxígeno molecular (O₂) dando

origen a las mencionadas EROs que incluyen el anión superóxido (O₂⁻), el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y el oxígeno singlete (¹O₂). Las EROs son muy inestables y tienden a reaccionar dentro de las células con proteínas, lípidos y el ADN ocasionando daño celular.

■ RESPUESTA AL ESTRÉS

A lo largo de la evolución, las plantas han desarrollado una serie de mecanismos de defensa contra los efectos nocivos del estrés ambiental y la deficiencia nutricional. A pesar de las diferencias entre cada estrés individual, todos ellos desencadenan una respuesta análoga constituida por una cascada de señales jerárquicas que participan en la percepción, transmisión de la información, regulación transcripcional y finalmente el combate de la situación hostil mediante cambios bioquímicos y fisiológicos. La respuesta al estrés comienza entonces cuando la planta lo percibe a nivel celular, para luego iniciar las rutas de señalización que terminan activando en el núcleo celular genes implicados en la expresión de los elementos finales de la cascada, los genes efectores (Figura 1). Las proteínas codificadas por los genes efectores son responsables de la defensa frente al estrés ambiental mediante diversos mecanismos, incluyendo compensación osmótica, eliminación de EROs, optimización de la captación de nutrientes escasos y reparación de componentes y estructuras celulares dañadas. Se trata de una respuesta multigénica, formada por una compleja red de reguladores interrelacionados y en consecuencia resulta difícil de manipular con fines agronómicos.

■ PERCEPCIÓN DEL ESTRÉS

En primer lugar, las plantas deben ser capaces de detectar las se-

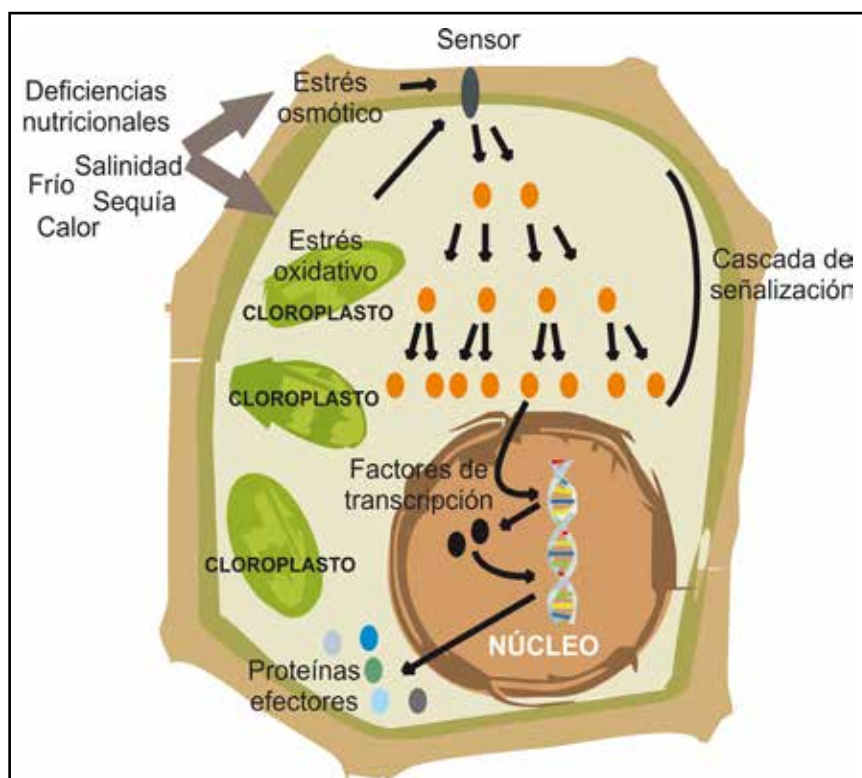


Figura 1: Esquema de las etapas que constituyen la defensa de la célula vegetal frente al estrés ambiental.

ñales ambientales para poder responder de forma adecuada al estrés. La manera en que la planta percibe que el ambiente es hostil constituye la etapa menos conocida de la respuesta a estrés, pero hay algunos sistemas estudiados como la detección de bajas temperaturas por cambios en la fluidez de membrana, de altas temperaturas por desnaturalización de proteínas sensoras, o la detección de EROs por cambios en los estados redox de proteínas sensoras. Hemos mencionado que los estreses osmótico y oxidativo acompañan virtualmente a todos los tipos de estrés ambiental y son los principales responsables del daño celular. Sin embargo, su comportamiento es dual ya que también actúan disparando la respuesta al estrés.

■ TRANSMISIÓN DE LA SEÑAL

Después del reconocimiento inicial de un estímulo de estrés, se in-

duce un proceso de transmisión de la señal desde el receptor del estrés al núcleo celular mediante reacciones químicas en las que participan distintas proteínas de forma ordenada. Una forma de transmitir la señal son las cascadas de quinasas. Consisten en la fosforilación (transferencia de grupos fosfato desde el ATP) a una proteína blanco por parte de un tipo de enzima denominada quinasa. El proceso de fosforilación se repite en la ruta de señalización de manera tal que la proteína blanco es a su vez una quinasa que va a transferir a su vez el grupo fosfato a otra proteína quinasa y así sucesivamente. De esta manera, la señal es amplificada varios órdenes de magnitud a partir de un pequeño número de moléculas inicialmente modificadas por el estrés.

Una vez que la señal llega al receptor final de la cascada se induce la expresión de genes cuyos produc-

tos son factores de transcripción que controlan conjuntos de genes efectores de respuesta a estrés o que actúan en la producción de moléculas reguladoras tales como la hormona vegetal ácido abscísico (ABA) que es una de las moléculas señal de la respuesta a la sequía. Los factores de transcripción son proteínas que reconocen e interactúan con elementos de regulación transcripcional que son secuencias específicas de ADN en las regiones promotoras de los genes regulados.

Finalmente, en el núcleo de la célula vegetal un grupo específico de factores de transcripción provoca la activación de los genes efectores para la defensa frente al estrés ambiental.

La cascada de señales se va diversificando a medida que se mueve corriente abajo, de pocos sensores se disparan varias cadenas de transducción de señales que a su vez activan un cierto número de factores de transcripción y a su vez estos activan un mayor número de genes efectores, que son en última instancia los responsables de la respuesta.

■ PROTEÍNAS EFECTORAS

Estas cascadas terminan finalmente activando genes efectores cuyos productos están implicados en el restablecimiento de la homeostasis celular y la protección y reparación de biomoléculas y membranas dañadas.

Éstos incluyen los genes para la síntesis de sustancias denominadas osmolitos o solutos compatibles que mitigan los efectos deletéreos del estrés osmótico, es decir, actúan como osmoprotectores porque retienen el agua dentro de la célula y evitan que drene al apoplasto. Se trata de amino ácidos como prolina, aminos como glicina-betaína y poliaminas,

azúcares como trehalosa y azúcares alcoholes como manitol.

Otros genes efectores son aquellos que controlan la producción de antioxidantes para eliminar las EROs generadas por estrés oxidativo. Los antioxidantes pueden ser de tipo enzimático y no enzimático. Entre las enzimas que eliminan EROs se encuentran catalasas, peroxidasas y superóxido dismutasas. Los antioxidantes no enzimáticos son compuestos orgánicos de bajo peso molecular como carotenoides, glutatión, la vitamina C (ascorbato) y la vitamina E (tocoferol), que son capaces de reaccionar químicamente con las EROs dando productos relativamente estables y no tóxicos.

Para protegerse contra la desnaturalización de proteínas, que las situaciones adversas pueden causar, se expresan genes efectores que codifican para proteínas denominadas chaperones moleculares que favorecen el adecuado plegamiento y ensamblado de enzimas y otras proteínas. Entre los chaperones moleculares se encuentran las proteínas HSP (Heat Shock Proteins) y las proteínas LEA (late-embryogenesis abundant).

También las membranas son protegidas. Por ejemplo, ante bajas temperaturas aumenta la síntesis de desaturasas lipídicas para incrementar el grado de insaturación de los ácidos grasos y así evitar que la bicapa lipídica se solidifique.

■ REFORZAMIENTO DE LOS SISTEMAS DE DEFENSA ENDÓGENOS

La estrategia aplicada para el mejoramiento de la tolerancia a condiciones ambientales adversas en cultivos se ha basado mayoritariamente en la manipulación de genes endógenos de respuesta a estrés, de tal manera de lograr su expresión por encima de lo que es la respuesta normal de la planta al estrés. La

premisa básica consiste en identificar qué genes se inducen durante distintas situaciones ambientales deletéreas, qué roles cumplen sus productos y finalmente determinar si es un punto de intervención correcto, es decir, determinar si aumenta la tolerancia al sobreexpresarlo. Los logros obtenidos usando este enfoque no han sido muchos ya que se trata de una respuesta modulada por múltiples genes regulados entre sí y con otras vías y, en consecuencia, difícil de predecir y manipular.

Si bien cada tipo de estrés (sequía, calor, heladas, salinidad) dispara una respuesta única, ésta posee algunos elementos comunes e idiosincráticos respecto a otros tipos de estrés y respecto a otras vías metabólicas y morfogenéticas de la planta. Entonces el problema es identificar genes cuya sobreexpresión brinde una mejor respuesta a sequía pero sin afectar el desarrollo y crecimiento de la planta bajo condiciones ambientales óptimas y, de ser posible, aumentando también la tolerancia a otros estreses ya que las plantas en el campo están expuestas generalmente a varias fuentes de estrés en forma simultánea.

La interacción entre las diferentes vías de respuesta a los distintos estreses puede resultar sinérgica, antagónica o concertada. Por ejemplo, la sequía produce un cierre estomático para evitar la pérdida de agua pero el calor produce una apertura de los estomas para favorecer la transpiración y así disminuir la temperatura de la célula. Sin embargo la sequía y el calor se presentan muchas veces juntos en la naturaleza. Esta es una de las razones por las cuales muchos genes identificados como "genes de tolerancia a estrés" han tenido un uso limitado, ya que su sobreexpresión sólo confiere tolerancia en un estrecho rango de condiciones de estrés que en su mayoría no son relevantes en el campo.

Entonces, la superposición entre las cascadas de decisiones inducidas por diferentes fuentes de estrés limita el número de intervenciones útiles y en muchas oportunidades requiere una regulación sofisticada del transgén. Pero, a su vez, este hecho abre posibilidades de obtener tolerancia cruzada a diferentes tipos de estrés mediante una única intervención transgénica.

Como la cascada de señalización se va diversificando corriente abajo, cuanto más arriba de la cascada de respuestas se ubica el gen manipulado genéticamente, es más probable conseguir mayor tolerancia e incluso conseguir tolerancia cruzada. Entonces se ha trabajado mucho con factores de transcripción, ya que al operar en un nivel alto de la jerarquía de la cascada de señalización resultan ser elementos comunes a distintos estreses. Por el contrario, al sobreexpresar genes corriente abajo se obtienen generalmente respuestas específicas. Por ejemplo, al sobreexpresar determinada HSP se puede generar tolerancia a calor pero no a frío ni a sequía.

El problema es que la sobreexpresión del gen de un determinado factor de transcripción u otra proteína en forma constitutiva también puede afectar otras decisiones metabólicas y morfogenéticas en condiciones de ausencia de estrés y por lo tanto es común que las plantas presenten retardos en el crecimiento bajo condiciones óptimas. No sólo es fundamental conocer si determinado gen aumenta su expresión bajo estrés y en qué grado lo hace, sino también la escala de tiempo en que este aumento ocurre y en qué momento desaparece esa inducción del gen. Por lo tanto, la sobreexpresión constitutiva del mismo altera este mecanismo y genera efectos sobre el crecimiento normal de la planta.

Una forma de evitar este incon-

veniente es utilizar promotores inducibles por estrés en lugar de constitutivos, de manera tal que el gen se sobreexpresara solamente en presencia del estrés, por ejemplo sequía, y así se obtenga una mayor tolerancia sin afectar el desarrollo de la planta bajo condiciones de crecimiento normales. Sin embargo, en la práctica existen muchas complicaciones ya que es difícil lograr un nivel de sobreexpresión del factor de transcripción tal que se obtenga un compromiso óptimo entre la tolerancia al estrés y el metabolismo central para el crecimiento y la reproducción. Por otro lado, es imposible obtener tolerancia generalizada. El uso de un promotor inducible por sequía hace que el factor de transcripción sólo se sobreexpresara en respuesta a ese estrés y no obtenemos tolerancia cruzada, a pesar de que el factor de transcripción se sintetice también frente a otros estreses por su promotor endógeno. Esto podría resolverse apilando en la región promotora varias secuencias de reconocimiento, cada una de las cuales responda a un estrés distinto, pero la manipulación génica se va complicando y las consecuencias no siempre resultan predecibles.

En consecuencia, uno de los mayores desafíos es el diseño de plantas transgénicas con mayor tolerancia a una combinación de diversos tipos de estrés, sobre todo a aquellos que se dan en forma simultánea en determinadas regiones. Para lograr esto se necesita un mayor conocimiento sobre la forma en que las diferentes vías de transducción de señales interactúan entre ellas. Se ha sugerido que el desarrollo de tolerancia generalizada a estreses combinados podría necesitar una respuesta única que no puede preverse solamente por la adición de genes inducidos durante cada estrés individual.

■ LAS ESTRATEGIAS SUSTITUTIVAS DE RESPUESTA A ESTRÉS EN MICROORGANISMOS FOTOSINTÉTICOS

Las cianobacterias, que son los precursores de los modernos cloroplastos, y las algas, muchas de las cuales son "parientes" de las plantas actuales, también se encuentran sometidos a condiciones hostiles pero apelan a estrategias basadas en la sustitución de proteínas sensibles al estrés por otras resistentes, lo cual les permite respuestas rápidas acorde a su corto ciclo de vida. Es decir, en lugar de respuestas complejas y multigénicas, han desarrollado estrategias de tipo substitutivas y unigénicas.

Un ejemplo notable es el reemplazo de ferredoxina (Fd), una ferro-sulfuro proteína particularmente susceptible a los desafíos ambientales, por una flavoproteína isofuncional, flavodoxina (Fld), en condiciones de estrés oxidativo, salinidad y deficiencia de hierro. Fld sustituye funcionalmente a Fd en virtualmente todas sus reacciones, aunque con menor eficiencia. En aquellos microorganismos donde están presentes los genes para ambas variantes isofuncionales, Fd es el transportador preferido, mientras que Fld actúa como sustituto en situaciones de emergencia.

El gen que codifica para Fld ha desaparecido del genoma vegetal durante la larga evolución que llevó a las plantas superiores, a pesar de que también en plantas Fd cae abruptamente ante situaciones de estrés incluyendo sequía o deficiencia de hierro. La declinación de los niveles de Fd resulta desastroso para el metabolismo de la célula vegetal ya que esta proteína es un componente clave de la fotosíntesis, responsable de la distribución de electrones desde la cadena de transporte electrónico a numerosas vías meta-

bólicas del cloroplasto, incluyendo la fijación de CO₂, la asimilación de nitrógeno y azufre, el metabolismo de aminoácidos y la desaturación de ácidos grasos. También participa en procesos regulatorios, disipativos y morfogenéticos. El descenso de la concentración celular de Fd en plantas expuestas a condiciones ambientales hostiles produce una distribución electrónica deficiente en la cadena fotosintética que causa la acumulación de EROs, generando el daño en células y tejidos.

El aumento del nivel de Fd en plantas resulta virtualmente imposible ya que su expresión está sujeta a un control redox post-transcripcional. Resolver esto no es problema simple y tal vez por eso los microorganismos tienen un método alternativo para paliar las situaciones de estrés ambiental, incluyendo la deficiencia de Fe.

Nuestro grupo ha demostrado que la expresión constitutiva de una Fld cianobacteriana en cloroplastos de tabaco no tiene consecuencias fenotípicas bajo condiciones óptimas pero genera un aumento sustancial de la tolerancia a un amplio rango de condiciones de estrés, incluyendo sequía, deficiencia de hierro, oxidantes cíclicos, heladas, radiación UV, exceso de iluminación y altas temperaturas. En la figura 2 se observa bajo sequía una pérdida de turgencia en líneas no transformadas, pero no en las líneas transgénicas que expresan Fld en cloroplastos. La figura 3 muestra un experimento en el cual las plantas fueron regadas con agua dura y alcalina (CaCO₃) para inducir condiciones de deficiencia de hierro que resultan fatales en las plantas no transformadas pero tolerables en las plantas transgénicas. La solubilidad del hierro disminuye en forma drástica con el aumento del pH. Por lo tanto el problema con el hierro en

los suelos no es de escasez, de hecho es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre, sino de biodisponibilidad, y un tercio de la superficie terrestre está cubierto con

suelos alcalinos y calcáreos, que limitan el desarrollo de la agricultura.

Cuando esta tecnología fue trasladada a cultivos de interés agronó-

mico como maíz, cebada, colza, tomate y papa se obtuvieron niveles similares de tolerancia (Figura 4).

Luego de demostrar el potencial de esta tecnología, nuestro grupo se ha enfocado a investigar la forma de actuar de Fld en la planta. El diseño de líneas transgénicas con regulación negativa de la expresión de Fd mediante un ARN antisentido resulta en plantas con fenotipos cloróticos y enanos. La expresión de la Fld cianobacteriana en cloroplastos de esas líneas generó la recuperación parcial del arresto en el crecimiento y en los niveles de clorofila, lo que indica que el desarrollo del estrés tolerante se basa, por lo menos parcialmente, en la sustitución de las actividades de la Fd endógena, como ocurre en microorganismos.

Todos estos resultados sugieren que las estrategias sustitutivas, presentes en microorganismos, siguen siendo efectivas en plantas a pesar de haber desaparecido en algún punto de la evolución de estas últimas.

Se encontraron además maneras de potenciar el efecto de Fld para mejorar aún más la tolerancia a estrés, por ejemplo mediante la determinación de la dosis óptima de Fld o mediante la manipulación de su estado redox por la expresión de otra proteína cianobacteriana.

■ ¿POR QUÉ EL GEN DE FLAVODOXINA ESTÁ AUSENTE EN PLANTAS?

Estos resultados muestran que las funciones compensatorias de Fld siguen siendo todavía operativas en plantas a pesar de la divergencia evolutiva entre cianobacterias y plantas. Surge entonces la pregunta de por qué una característica genética que confiere ventajas tan obvias para la supervivencia no fue selec-

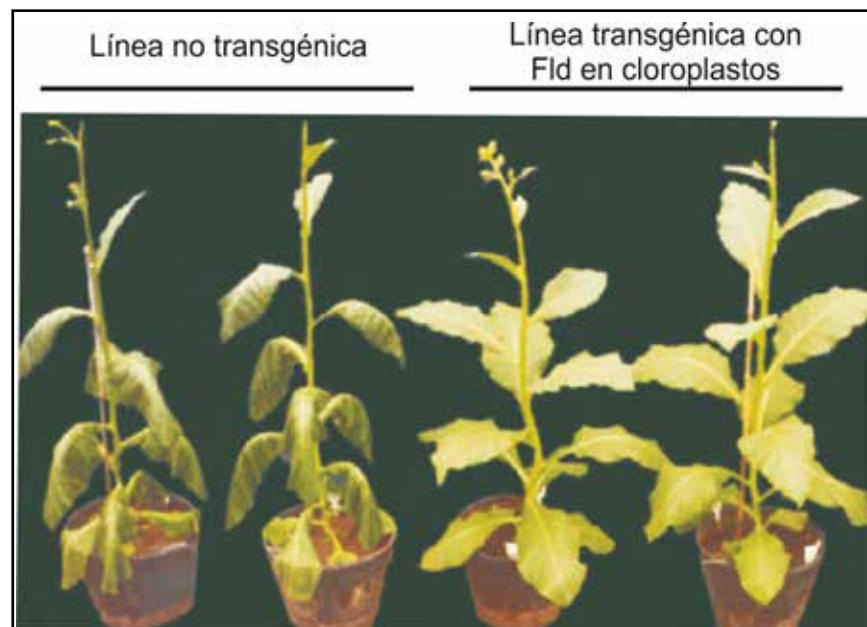


Figura 2: Plantas transgénicas de tabaco que expresan una Fld cianobacteriana en cloroplastos exhiben mayor tolerancia a estrés hídrico. Plantas de 2 meses crecidas en condiciones de cámara de cultivo fueron enfrentadas a condiciones de déficit hídrico por suspensión del riego durante 3 días (Fuente: Tognetti y col., 2006).

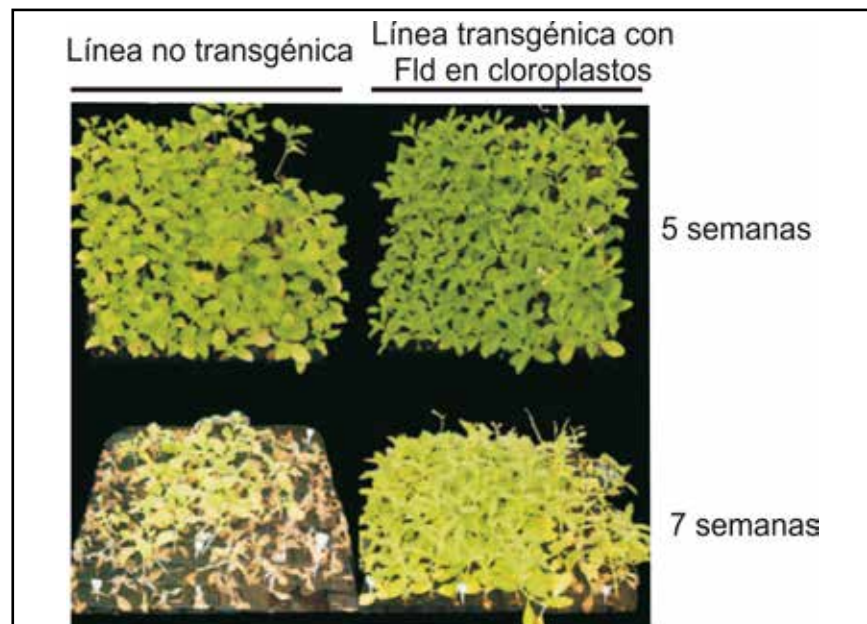


Figura 3: Plantas transgénicas de tabaco que expresan una Fld cianobacteriana en cloroplastos exhiben mayor tolerancia a deficiencia de hierro. Lotes de 100 semillas fueron germinados y crecidos en tierra regada diariamente con 10 mM CaCO₃, pH 9. Las imágenes fueron tomadas a 5 (arriba) y 7 (abajo) semanas de tratamiento (Fuente: Tognetti y col., 2007).

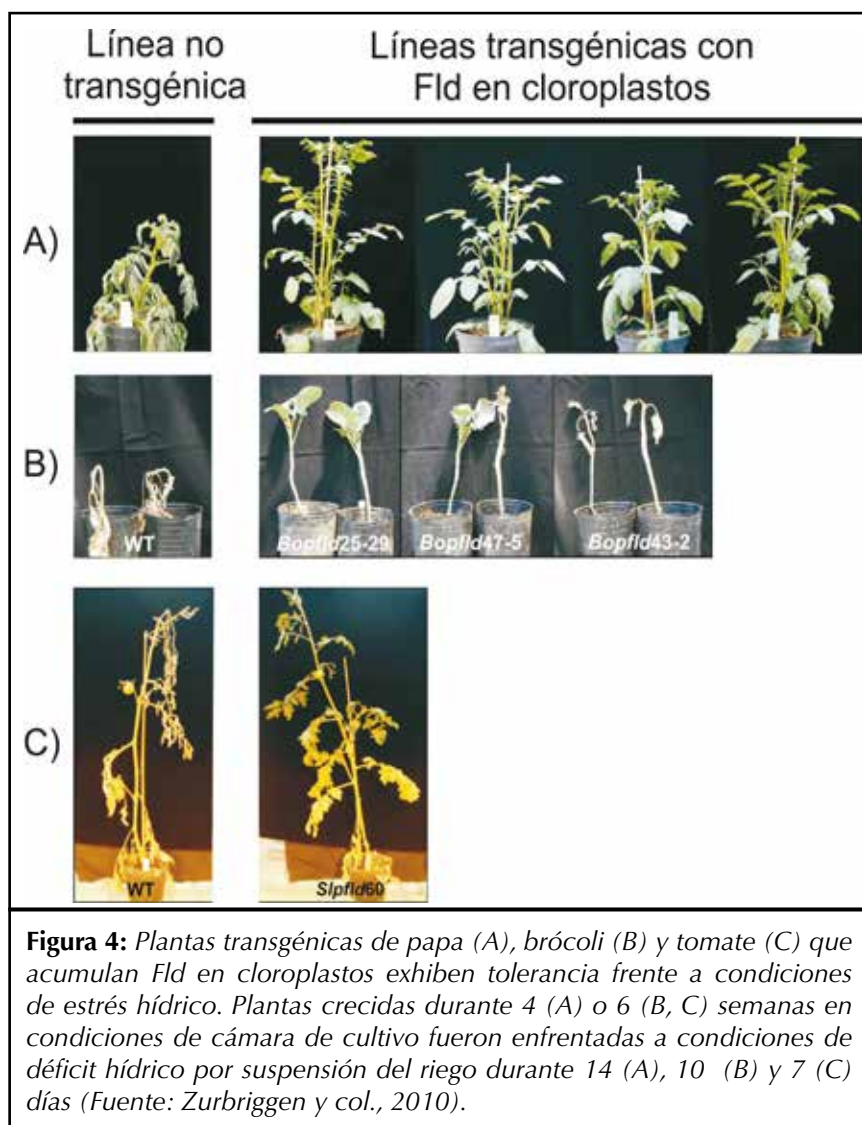


Figura 4: Plantas transgénicas de papa (A), brócoli (B) y tomate (C) que acumulan Fld en cloroplastos exhiben tolerancia frente a condiciones de estrés hídrico. Plantas crecidas durante 4 (A) o 6 (B, C) semanas en condiciones de cámara de cultivo fueron enfrentadas a condiciones de déficit hídrico por suspensión del riego durante 14 (A), 10 (B) y 7 (C) días (Fuente: Zurbriggen y col., 2010).

cionada durante la evolución de las plantas terrestres.

El gen que codifica para Fld no está universalmente distribuido en cianobacterias y algas aunque se encuentra presente en la mayoría de los grupos taxonómicos de ambos organismos.

Las algas son un grupo parafilético de organismos fotosintéticos eucariotas dentro del cual se encuentran los linajes hermanos a las plantas. Al analizar la distribución del gen de Fld entre las distintas especies de algas, se observó una fuerte correlación negativa entre la presencia del gen y el nivel de hie-

rrero del ambiente, sugiriendo que la limitación de hierro fue el factor determinante de la presencia del gen de Fld en el genoma de las algas. Este mismo patrón se observó en cianobacterias. El hierro se encuentra normalmente en altas concentraciones en regiones costeras y en agua dulce, debido a la resuspensión de sedimentos y al transporte eólico de polvo atmosférico desde tierra firme. Por el contrario, este metal tiende a ser crónicamente deficiente en el océano abierto. La frecuencia observada de algas con el gen de Fld es considerablemente menor en costas y agua dulce que en regiones oceánicas, inclusive en especies muy cercanas filogenéticamente.

Estos resultados sugerirían que el gen de Fld se perdió durante la transición evolutiva agua-tierra, desde algas verdes a plantas, cuando el linaje de algas verdes pasó por una etapa en las regiones costeras o de agua dulce en el que no se requería Fld como recurso adaptativo ya que el hierro era abundante y biodisponible para los organismos fotosintéticos. Por lo tanto el gen de Fld habría estado ausente en el macroalga costera a partir de la cual las plantas modernas evolucionaron.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El uso del gen de Fld para generar cultivos tolerantes a estrés tiene un significativo potencial biotecnológico y presenta ventajas únicas respecto a las estrategias más usuales de la ingeniería genética basadas en la sobreexpresión de genes endógenos. La introducción de un único gen permite la obtención de tolerancia a múltiples tipos de estrés, su origen procarionota impide complicaciones regulatorias en la planta, es decir, evita el mecanismo de regulación redox que determina la caída de los niveles de Fd y además no muestra penalidades en el desarrollo o en la reproducción bajo condiciones de crecimiento normales.

Por otro lado este enfoque no se limita en principio a flavodoxina, ya que existen otros productos génicos cianobacterianos que participan en respuestas adaptativas factibles de ser introducidos en plantas.

GLOSARIO

Algas: Son los únicos organismos eucariotes, además de las plantas, que realizan fotosíntesis. Es un grupo muy diverso, desde organismos unicelulares a multicelulares, algunos de los cuales son “parientes”

de las plantas (algas verdes, rojas y glaucofitas).

Cianobacterias: Único grupo de bacterias con la capacidad de realizar fotosíntesis oxigénica. Los ancestros de las cianobacterias modernas dieron lugar a los cloroplastos de las plantas y las algas por un proceso denominado endosimbiosis.

Estrés ambiental (abiótico): Situación en que las condiciones ambientales adversas superan la defensa y los mecanismos adaptativos de la planta, resultando en retrasos de crecimiento, menor producción de semillas y, eventualmente, la muerte. Los factores que lo desencadenan pueden ser temperaturas extremas (heladas y calor), deficiencias o exceso de agua o nutrientes, salinidad, alta intensidad de luz, radiación ultravioleta, metales pesados, xenobióticos.

Factor de transcripción: Proteína que se une a secuencias específicas de ADN para controlar la activación de determinados genes.

Promotor: Región de ADN localizada inmediatamente corriente arriba del gen, que regula la expresión del mismo. Los promotores constitutivos están siempre activos, mientras que los promotores inducibles se activan en respuesta a estímulos específicos.

Transgénicos: Organismo cuyo material genético ha sido alterado mediante técnicas de ingeniería genética.

■ BIBLIOGRAFÍA

Blanco, N. E., Ceccoli, R. D., Segretin, M. E., Poli, H. O., Voss, I., Melzer, M., Bravo-Almonacid, F.F., Scheibe, R., Hajirezaei, M.R., Carrillo, N. (2011) Cyanobacterial flavodoxin complements ferredoxin deficiency in

knocked-down transgenic tobacco plants. *The Plant Journal*, 65: 922-935.

Ceccoli, R.D., Blanco, N.E., Segretin, M.E., Melzer, M., Hanke, G.T., Scheibe, R., Hajirezaei, M.R., Bravo-Almonacid, F.F., Carrillo, N. (2012) Flavodoxin displays dose-dependent effects on photosynthesis and stress tolerance when expressed in transgenic tobacco plants. *Planta*, 236: 1447-1458.

Lodeyro, A. F., Ceccoli, R. D., Piarella Karlusich, J. J., Carrillo, N. (2012). The importance of flavodoxin for environmental stress tolerance in photosynthetic microorganisms and transgenic plants. Mechanism, evolution and biotechnological potential. *FEBS letters*, 586: 2917-2924.

Tognetti, V. B., Palatnik, J. F., Fillat, M. F., Melzer, M., Hajirezaei, M. R., Valle, E. M., Carrillo, N. (2006). Functional replacement of ferredoxin by a cyanobacterial flavodoxin in tobacco confers broad-range stress tolerance. *The Plant Cell*, 18: 2035-2050.

Tognetti, V. B., Zurbriggen, M. D., Morandi, E. N., Fillat, M. F., Valle, E. M., Hajirezaei, M. R., Carrillo, N. (2007). Enhanced plant tolerance to iron starvation by functional substitution of chloroplast ferredoxin with a bacterial flavodoxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104: 11495-11500.

Zurbriggen, M. D., Tognetti, V. B., Fillat, M. F., Hajirezaei, M. R., Valle, E. M., Carrillo, N. (2008). Combating stress with flavodoxin: a promising route for crop improvement. *Trends in biotechnology*, 26: 531-537.

Zurbriggen, M. D., Hajirezaei, M. R., Carrillo, N. (2010). Engineering the future. Development of transgenic plants with enhanced tolerance to adverse environments. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 27: 33-56.



Ciencia Tecnología Innovación

34 CENTROS DE INVESTIGACIÓN PROPIOS, ASOCIADOS,
VINCULADOS O EN RED

INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

CARRERA DEL PERSONAL DE APOYO A LA INVESTIGACIÓN
Y DESARROLLO

PROGRAMA DE BECAS

- Becas de entrenamiento para alumnos universitarios
- Becas de estudio
- Becas de perfeccionamiento

SUBSIDIOS

- Para la Realización de Reuniones Científicas y Tecnológicas y Asistencia a Reuniones
- Para Publicaciones Científicas y Tecnológicas
- Para Proyectos de Investigación de Interés Provincial

INNOVACIÓN, TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA Y CULTURA
EMPREDEDORA

PROGRAMA DE MODERNIZACIÓN TECNOLÓGICA

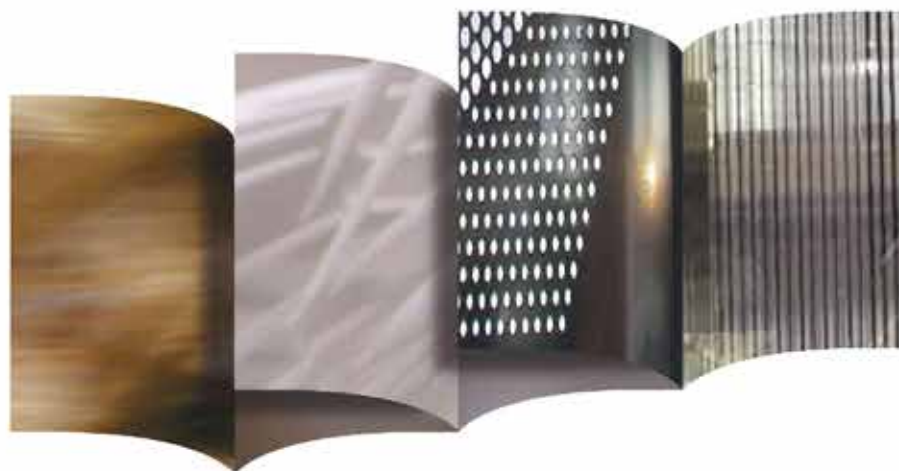
PROGRAMA EMPRECIC

CRÉDITO FISCAL

PROGRAMA DE FORMACIÓN DE FORMADORES EN
EMPREDEDORISMO

 [comisioendeinvestigaciones.
cientificas](https://www.facebook.com/comisioendeinvestigaciones.cientificas)

www.cic.gba.gov.ar



Desarrollo y gestión de proyectos científicos y tecnológicos innovadores

FUNINTEC es una organización sin fines de lucro creada por la Universidad de San Martín cuyo objetivo es promover y alentar la investigación, el desarrollo tecnológico y la transferencia de conocimientos a los sectores público y privado, sus empresas y en particular a las PyMES.

Dentro de los alcances previstos por la Ley de Innovación Tecnológica, funciona como vínculo entre el sistema científico tecnológico y el sector productivo.

CONTACTO:
www.funintec.org.ar

Fundación
Innovación
y Tecnología

FUNINTEC

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN

