

Rol de la alantoína durante la maduración y germinación de la semilla de *Arabidopsis thaliana*

Martini C, Lescano I, Fagiani M, Devegili A y M Desimone

FCEyN, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina
IMBIV-CONICET (Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal), Córdoba, Argentina
Contacto: cmartini@efn.uncor.edu

IMBIV
CONICET
UNC

UNC
Universidad Nacional de Córdoba

1413 - 2013
400 AÑOS

La alantoína es un compuesto nitrogenado heterocíclico derivado de la vía de oxidación de las purinas que tiene un papel importante en la asimilación, metabolismo, transporte y almacenamiento de nitrógeno en plantas (Todd, 2006. J. Exp. Bot. 57: 5-12.). Numerosos estudios han demostrado una estrecha relación entre la activación de esta vía y procesos de aclimatación y respuesta a estrés biótico y abiótico (Alamillo, 2010. Plant Cell Environ. 33: 1828-1837.).

Las permeasas de ureidos (AtUPS) son una familia de proteínas de membrana, algunos de ellos caracterizados como transportadores de alantoína, xantina y ácido úrico. AtUPS4 es un miembro de esta familia, cuya expresión se encuentra restringida principalmente a los estadios finales de la maduración del fruto, la semilla seca y las primeras horas de la germinación

El objetivo de este trabajo es determinar el efecto de la alantoína en la germinación de semillas de *A. thaliana*. Para ello se determinó el contenido de ureidos durante la formación de la semilla y el inicio de la germinación. Se evaluó también la capacidad de germinación en diferentes condiciones ambientales de líneas silvestres, knockout y expresantes de alantoínasa inducibles por estrés.

➤ **EL CONTENIDO DE ALANTOÍNA Y ÁCIDO ALANTOICO VARÍA DURANTE LA MADURACIÓN DEL FRUTO Y LA GERMINACIÓN. ESTAS VARIACIONES SE CORRELACIONAN CON LA EXPRESIÓN DE LA ENZIMA ALANTOINASA (ALN::GUS)**

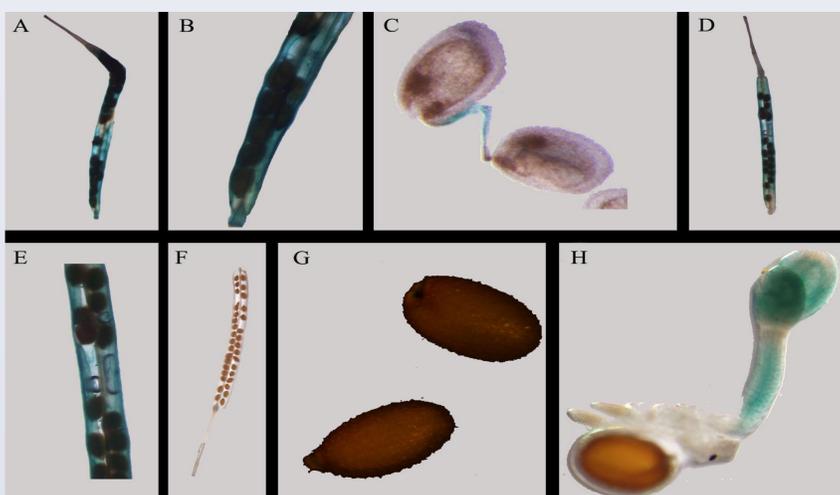


Fig. 1: Tinción para actividad GUS en plántulas transgénicas con el gen reportero bajo el control del promotor de alantoínasa (ALN::GUS) A-C: Silicua 1, D-E: Silicua 2; F: Silicua madura (Silicua 3); G: Semilla seca; H: Plántula 3 días luego de la imbibición. Los estadios 1 y 2 corresponden a los estadios 7-8 y 9-10 de <https://www.genomforschung.uni-bielefeld.de/GF-research/AtGenExpress-SeedsSiliques.html>

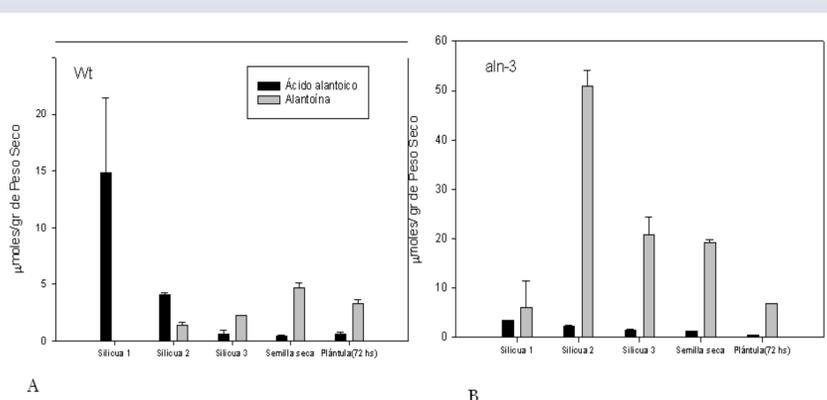


Fig. 2: Contenido de ácido alantoico y alantoína en silicuas (fruto y semillas), semilla seca y plántulas de 3 días (desde la imbibición) de plantas wt (A) y knockout de alantoínasa SALK_013427c (aln-3). Las determinaciones se realizaron siguiendo la metodología propuesta por VogelsandVanderDrift(1966)

➤ **LA ALANTOÍNA, TANTO ENDÓGENA COMO EXÓGENA, MEJORA LA GERMINACIÓN EN CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO.**

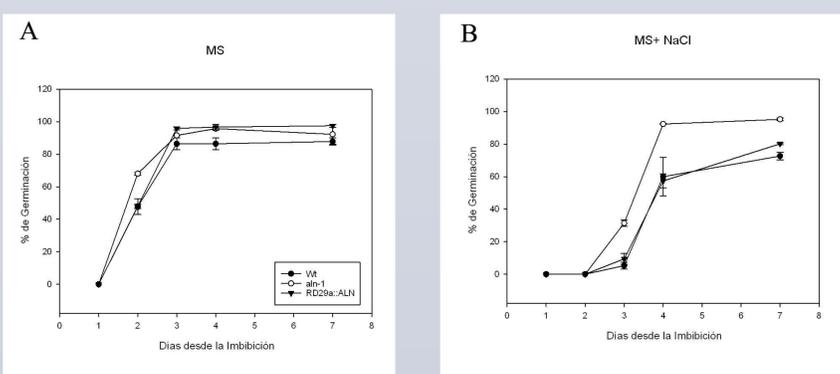
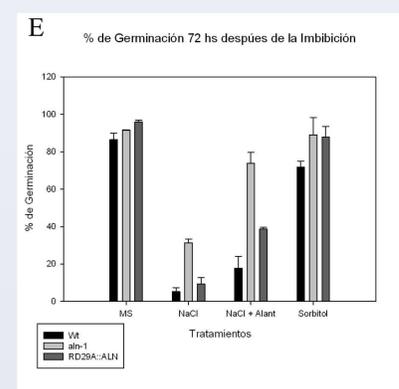
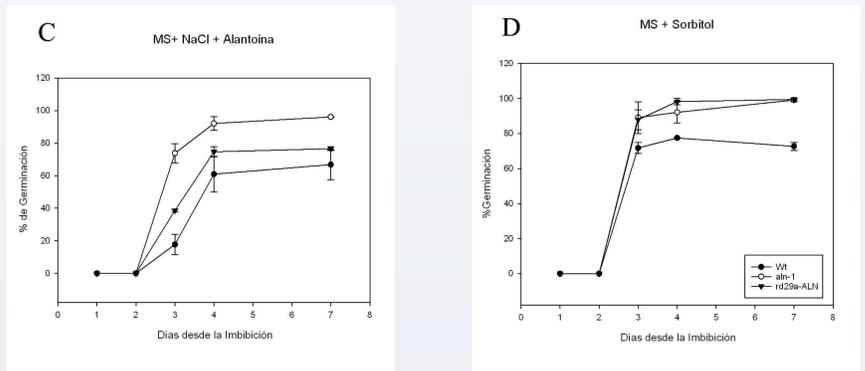


Fig. 3: Curva de Germinación (A-D) de semillas Wt, knockout de ALN SALK_142607 (aln-1) y RD29A::ALN (sobreexpresante de ALN inducido por estrés) en MS (A), MS + NaCl 100 mM (B), Ms + NaCl 100mM + Alantoína 1mM (C) y Ms + Sorbitol 200mM (D). Porcentaje de germinación a las 72 hs desde la imbibición para cada uno de los tratamientos (E)



➤ **LA PROTEÍNA DE MEMBRANA AtUPS4 TRANSPORTA ALANTOÍNA**

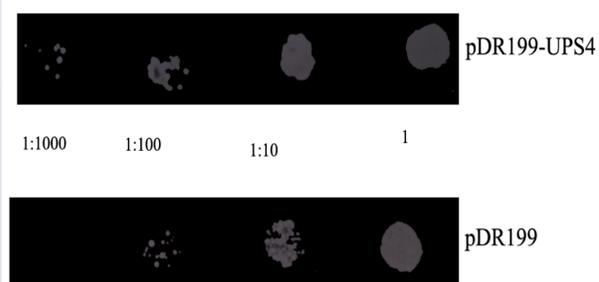


Fig. 3: Complementación funcional de cepas mutantes de levaduras deficientes en el transporte de alantoína (dal4) transformadas con el vector pDR199 y pDR199AtUPS4. El cultivo se realizó en medio mínimo con alantoína como única fuente de Nitrógeno.

Los datos obtenidos hasta el momento sugieren que tanto la Acumulación como la suplementación exógena de alantoína mejoran la germinación en condiciones de estrés salino en *A. thaliana*. El estrés ósmótico no afecta de manera significativa la tasa de germinación de las líneas RD29A::ALN, aln- y Wt.

La proteína de membrana AtUPS4, expresada casi exclusivamente en las etapas finales de la formación del fruto, la semilla seca y los momentos iniciales de la germinación transporta alantoína, según los ensayos de complementación funcional realizados. En esta etapa del desarrollo su función podría estar relacionada con el transporte de esta sustancia dentro de la semilla

Los estudios presentes están enfocados en determinar la localización tisular y celular de la proteína para comprender su función.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado con fondos provenientes de FONCYT (Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología), CONICET (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología), Argentina y SECYT-UNC (Secretaría de Ciencia y Técnica de la UNC)