



EFFECTO DEL ACIDO ABCSCISICO SOBRE EL DESARROLLO DEL MUSGO TOLERANTE A DESECACION *Bryum ballarderi*

Alejandra Chamorro Flores¹, Miguel Angel Villalobos López¹ y Analilia Arroyo Becerra¹

1 Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. joalbema@hotmail.com; mvillalobosl@ipn.mx; alarroyo@ipn.mx

RESUMEN

El ácido abscísico (ABA) es una fitohormona que regula diversos procesos en plantas vasculares, incluyendo maduración de embriones, dormancia en semillas, senescencia y respuestas a estrés abiótico, además del cierre estomático. El ABA ha sido llamado la hormona del estrés, ya que incrementa la adaptación a varios tipos de estrés como, temperaturas bajas y salinidad, también participa en las respuestas de la planta ante el déficit hídrico. El modo de acción del ABA es complejo por ello es un tema dinámico de investigación. Si bien se ha hecho un progreso sustancial para entender los procesos de señalización en varios sistemas de plantas, muchas preguntas en relación con las respuestas a esta fitohormona permanecen para ser contestadas. Con el objetivo de conocer el efecto del ABA sobre el desarrollo de *B. billarderi*, esporas de este musgo se sembraron en medio PpNH4 adicionado con diferentes concentraciones de ABA (0.1-7.5 μ M), la cinética de germinación fue cuantificada por 8 días y los resultados mostraron un patrón de germinación muy semejante entre el control y las concentraciones de ABA evaluadas. Tales resultados muestran que las concentraciones evaluadas no tienen efecto sobre la germinación de las esporas, estos resultados contrastan con el efecto en las semillas de *Arabidopsis*, donde la germinación comienza a inhibirse a partir de ABA 3 μ M. En etapa de desarrollo protonemal tampoco se observaron diferencias entre los protonemas expuestos a las diferentes concentraciones de ABA. Lo que sugiere que el ABA no tiene efecto sobre este estado de desarrollo sugiriendo insensibilidad, o bien, sensibilidad reducida respecto a *Arabidopsis*. De acuerdo a estos los resultados, las respuestas al ABA y los niveles de sensibilidad, son diferentes entre la planta modelo *Arabidopsis* y *B. billarderi*, lo que convierte a esta planta en un modelo interesante para conocer los mecanismos de acción del ABA en briofitas.

1. INTRODUCCIÓN

Las briofitas son plantas no vasculares, es decir, plantas que no cuentan con un sistema especializado para el transporte de agua y nutrientes (como el xilema y floema en las plantas vasculares). Su ciclo de vida incluye dos fases: el gametofito y el esporofito, cada una con atributos morfológicos y biológicos que señalan a las briofitas como un grupo excepcional e importante en la evolución del reino vegetal ya que los musgos y las plantas con flores divergen por más de 400 millones de años (Goffinet y Shaw, 2009). En las briofitas la fase dominante de su ciclo de vida es haploide, mientras que las plantas con flores (angiospermas) tienen un ciclo de vida diploide dominante (Nishiyama *et al.*, 2003).



El ABA ha sido llamado la hormona del estrés, ya que esta aumenta la adaptación a varios tipos de estrés, tales como temperaturas bajas, radiación por UV, patógenos, salinidad, también participa en las respuestas de la planta ante el déficit hídrico (Giraudat *et al.*, 1994; 1995; Leung y Giraudat, 1998; Finkelstein *et al.*, 2002). Las respuestas al ABA involucran su percepción por medio de receptores celulares y señales de transducción reguladas por proteínas cinasas y segundos mensajeros, dirigiendo la regulación de canales de iones y la activación de factores de transcripción que controlan a los genes inducibles por el ABA (Takezawa, 2011).

La mayoría de los estudios sobre el papel del ABA en briofitas se han concentrado en la adquisición de la tolerancia a estrés ambiental (Cove, *et al.*, 2006). Entre los musgos, el ABA ha sido detectado en protonemas de *Funaria hygrometrica*, donde después de un secado lento hay un aumento en el ABA endógeno y los protonemas sobreviven a la desecación (Werner *et al.*, 1991). Se han reportado claras evidencias de la presencia de una vía de señalización específica para esta hormona (Cove *et al.*, 2006), aunque su función en estas plantas no ha sido apropiadamente clarificada.

MATERIALES Y METODOS

Para conocer el efecto del ABA sobre el desarrollo de *B. billarderi*, se evaluaron dos etapas de su desarrollo: esporas y protonema. Para las pruebas de germinación se sembraron aproximadamente 100 esporas para cada tratamiento en medio PpNH₄ adicionado con diferentes concentraciones de ABA (0.1-10 μ M) y se registró la cinética de germinación por 8 días. Para el caso de Arabidopsis se utilizaron 25 semillas por cada tratamiento (0, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2.5, 5, 7.5, y 10 μ M) y la cinética de germinación fue registrada por 5 días.

Para el caso de la etapa protonemal, el tejido protonemal con 10 días de edad fue transferido a medio PpNH₄ adicionado con diferentes concentraciones de ABA (0.1, 0.3 y 0.5 μ M). El experimento fue monitoreado por 15 días por medio de un registro fotográfico y como parámetro fisiológico fue medida la Fv/Fm por medio de un Fluorometro (FluorPen 100)

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de las cinéticas de germinación, mostraron que el patrón de germinación es muy semejante entre el control y los tratamientos, lo que hace notar que las concentraciones de ABA utilizadas para este experimento no mostraron tener algún efecto sobre la germinación de las esporas (Figura 1 y 2). Esto es muy interesante debido a que en las semillas de Arabidopsis, una planta vascular, la germinación comienza a inhibirse a partir de ABA 3 μ M (Figura 3 y 4).

Cuando los protonemas de *B. billarderi* fueron transferidos a medios adicionados con diferentes concentraciones de ABA, durante 15 días no se observaron diferencias fenotípicas entre las concentraciones evaluadas (figura 5); sin embargo, 45 días después de estar en estas condiciones pudimos observar la formación de gametóforos únicamente en las condiciones que contenían ABA (figura 6). Estos resultados nos sugieren que a nivel de protonema el ABA promueve la formación de gametofitos, este dato es muy importante ya que hasta el momento no se ha reportado en la literatura este efecto por parte del ABA en musgos. Respecto a la eficiencia fotosintética esta fue alta y muy semejante entre los tratamientos lo que nos sugiere que en las concentraciones evaluadas el ABA no parece afectar la fotosíntesis de *B. billarderi* (figura 7) caso contrario a lo reportado en la planta modelo Arabidopsis.

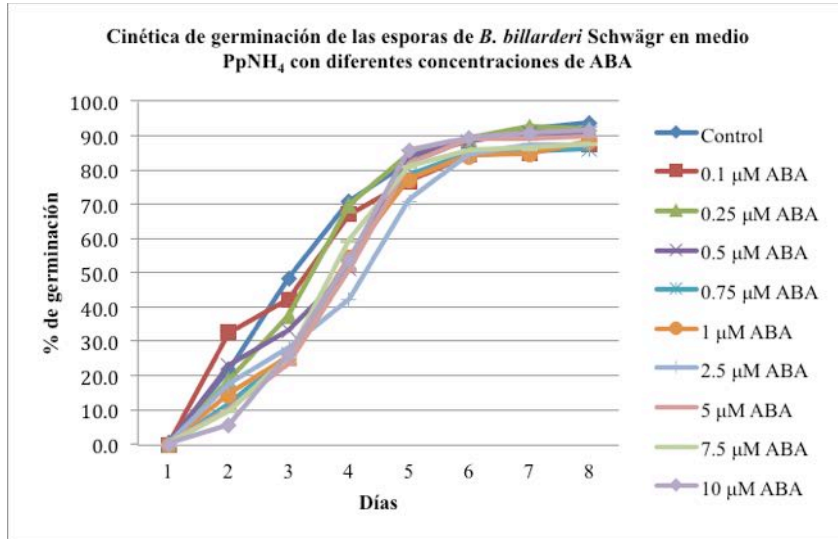


Figura 1. Representación gráfica de las cinéticas de germinación de las esporas de *B. billarderi* Schwägr, n=2 esporófitos.

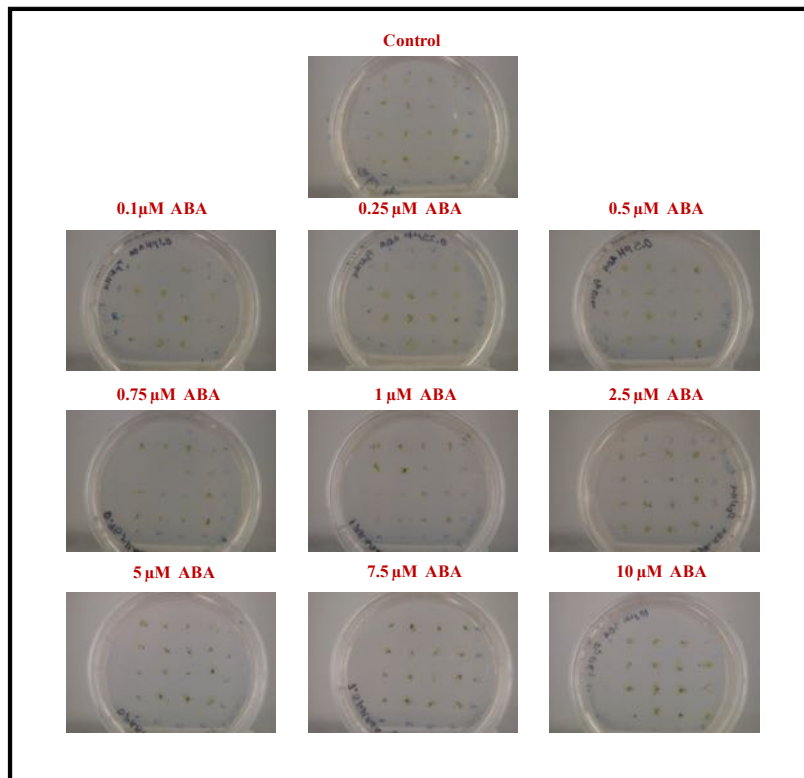


Figura 2. Fenotipos post-germinativos de las esporas de *B. billarderi* Schwägr sembradas en medios con diferentes concentraciones de ABA. Las fotografías fueron tomadas a los 22 días de haber sido sembradas en las condiciones evaluadas, en la parte superior se muestra el control n= 2 esporófitos.

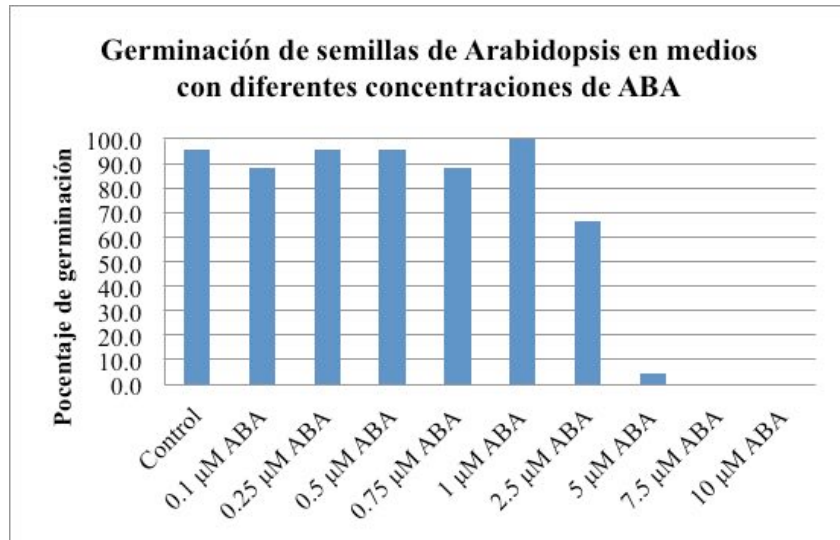


Figura 3. Representación gráfica del efecto dosis-respuesta en el porcentaje de germinación de las semillas de Arabidopsis a los 5 días, en diferentes concentraciones de ABA.

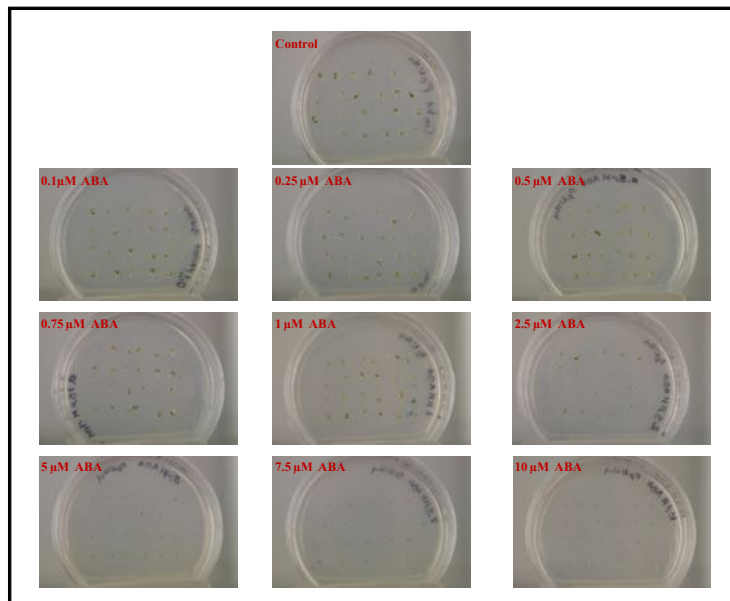


Figura 4. Apariencia fenotípica de plántulas de Arabidopsis con 5 días de edad sembradas en diferentes concentraciones de ABA.

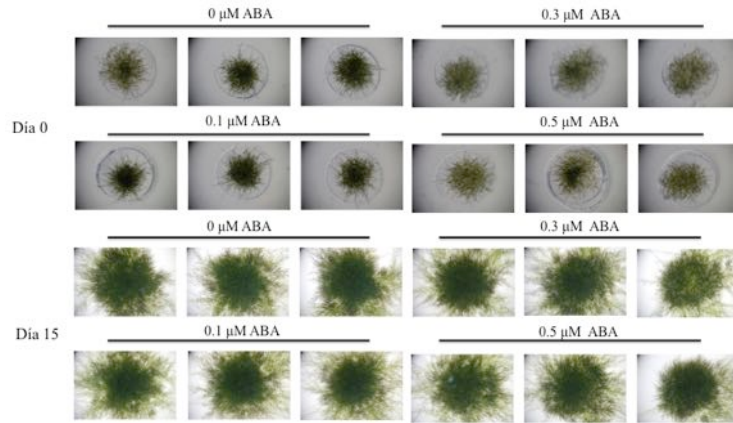


Figura 5. Imágenes representativas de los fenotipos de protonemas del musgo *B. billarderi* en respuesta a diferentes concentraciones de ABA.

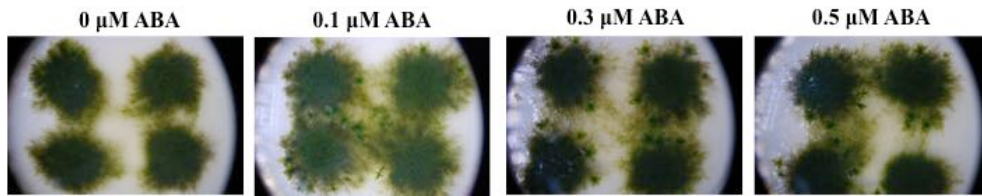


Figura 6. Fenotipos de protonemas después de estar 45 días expuestos a diferentes concentraciones de ABA

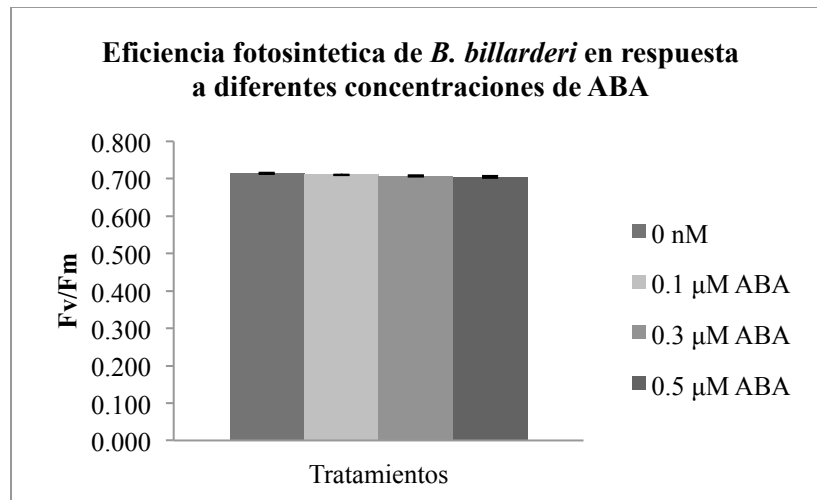


Figura 7. Representación gráfica de la eficiencia fotosintética en protonemas del musgo *B. billarderi* después de estar expuestos por 15 días a los diferentes tratamientos. Se representa la media \pm ES, n=3.



CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, la fitohormona ABA no inhibe la germinación de las esporas de la briofita *B. billarderi* como ocurre en semillas de la planta vascular *Arabidopsis thaliana* sugiriendo insensibilidad, o bien, sensibilidad reducida respecto a *Arabidopsis*. En etapa protonemal el ABA (0.1, 0.3 y 0.5 μM) induce la formación de gametóforos y no afecta o inhibe el crecimiento ni la actividad fotosintética del musgo. De acuerdo a estos resultados, las respuestas al ABA y los niveles de sensibilidad, son diferentes entre la planta modelo *Arabidopsis* y *B. billarderi*, lo que convierte a esta planta en un modelo interesante para conocer los mecanismos de acción del ABA en briofitas.

Agradecemos a CONACYT, SIP2015, COFAA y al Instituto Politécnico Nacional por los apoyos otorgados, y becas CONACYT y PIFI doctorales (ACF).

BIBLIOGRAFÍA

1. Cove D., Bezanilla M., Harries P. y Quatrano R. 2006. Mosses as Model Systems for the Study of Metabolism and Development. *Annual Review of Plant Biology*. 57:497–520.
2. Finkelstein, R.R., Gampala, S.S.L., y Rock, C.D. 2002. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell*. 14: S15-S45.
3. Giraudat, J., Parcy, F., Bertauche, N., Gosti, F., Leung, J., Morris, P.C., Bouvier-Durant, M., y Vartanian N. 1994. Current advances in abscisic acid action and signalling. *Plant Molecular Biology* 26: 1557- 1577.
4. Giraudat, J. 1995. Abscisic acid signalling. *Current Opinion in Cell Biology* 7: 232-238.
5. Goffinet B., Buck W. y Shaw J. 2009. Morphology, anatomy, and classification of the Bryophyta. In Goffinet B y Shaw A J, *Bryophyte Biology: second edition*, Cambridge University Press, pp: 55-138
6. Leung, J., y Giraudat, J. 1998. Abscisic acid signal transduction. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 49: 199-222
7. Nishiyama T., Fujita T., Shin-I T., Seki M., Nishide H., Uchiyama I., Kamiya A., Carninci P., Hayashizaki Y., Shinozaki K., Kohara Y. y M. Hasebe. 2003. Comparative genomics of *Physcomitrella patens* gametophytic transcriptome and *Arabidopsis thaliana*: Implication for land plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 13:8007–8012.
8. Takezawa D., Komatsu K. y Sakata Y. 2011. ABA in bryophytes: how a universal growth regulator in life became a plant hormone? *Journal of Plant Research*. DOI 10.1007/s10265-011-0410-5
9. Werner O., Espin R.M.R., Bopp M, y Atzorn R. 1991. Abscisic acid-induced drought tolerance in *Funaria hygrometrica* Hedw. *Planta* 186:99–103