SYP123 MEDIA LA RESPUESTA DE LAS PLANTAS DE Arabidopsis AL ENDÓFITO BENÉFICO *Gluconacetobacter diazotrophicus*.

Rivero Márquez Luz Amira, Srebot María Sol, Tomasini Bianca, Di Sciascio Sol María, Ferretti Matías, Bettucci Gabriel, Martínez María Laura y Rodriguez María Victoria

Área Biología Vegetal, CONICET. Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. E-mail: mrodrigu@fbioyf.unr.edu.ar

Introducción y Objetivos

Nuestro grupo ha estudiado el uso de la bacteria endófita *Gluconacetobacter diazotrophicus* como promotora del crecimiento vegetal, mejorando el crecimiento y brindando protección a los cutivos frente a patógenos mediante el *priming* de sistemas de defensa vegetal. Las bacterias endófitas son capaces de ejercer biocontrol mediante la respuesta de resistencia sistémica inducida (ISR) en plantas. La formación en los pelos radicales de estructuras complejas que se forman entre la membrana plasmática y el interior de la pared celular, llamadas papilas, es una respuesta de defensa temprana que puede contribuir a la inmunidad innata de la planta[1]. Se ha observado que proteínas de Arabidopsis, miembros de la familia de la sintaxinas, como SYP123, están involucradas en la constitución de estas papilas y en activar la ISR[2]. El objetivo de este trabajo fue estudiar la respuesta al endófito benéfico *Gluconoacetobacter diazotrophicus* Pal 5 (Gd) de plantas Col0 y mutantes *syp123* de Arabidopsis y la formación de papilas en las mismas.

Te invitamos a ver nuestro **Trabajo previo**

Srebot et al, 2021; 2024
Rodriguez et al, 2019

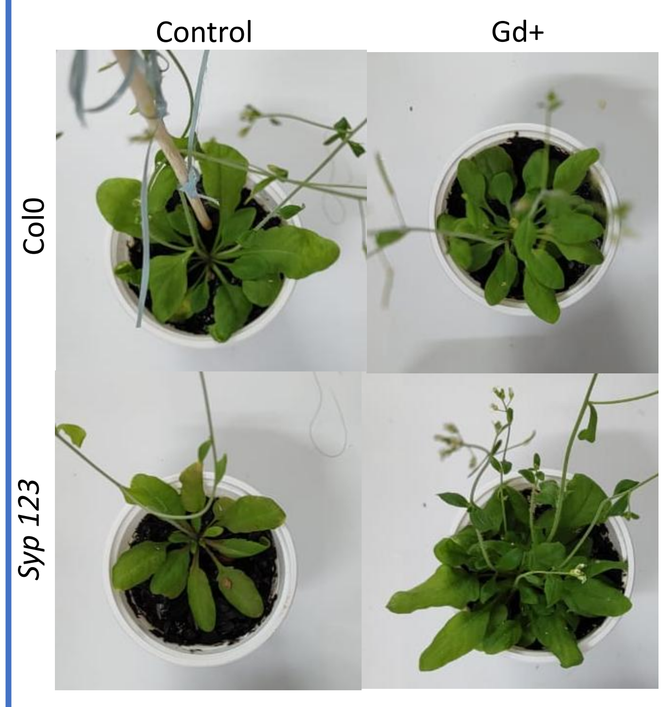
Materiales y Métodos

Inoculación con 10^6 UFC por g de sustrato de:
G. diazotrophicus > *tratamiento* G
o agua estéril > tratamiento C

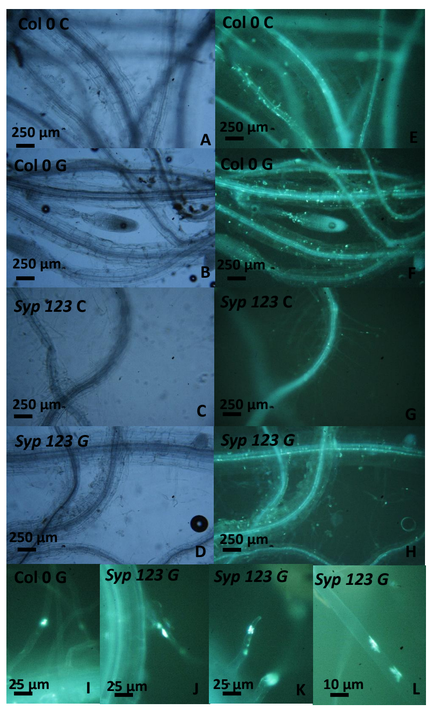
- Medición de **parámetros exomorfológicos**: peso fresco (PF, g), número de hojas de la roseta (NHR), números de hojas en el tallo (NHT), largo del tallo (LT, cm) y largo de la raíz (LR, cm), número de pelos por mm lineal de raíz (NP)
- **Determinación de Clorofilas** a por espectrofotometría.
- **Cuantificación de *G. diazotrophicus*** en la raíz por extracción y recuento bacteriano en placa.
- **Análisis microscópico:** Fijación en FAA para posterior inclusión, corte y coloración con *Saftanina-Fast Green* y observación al microscopio óptico. Se procesaron raíces con con azul de anilina para observar la calosa de las papilas al microscopio de fluorescencia.
- Observación **anatómica de la raíz**.

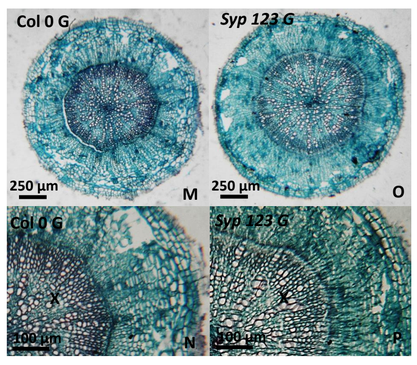
Resultados

ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE RAÍZ



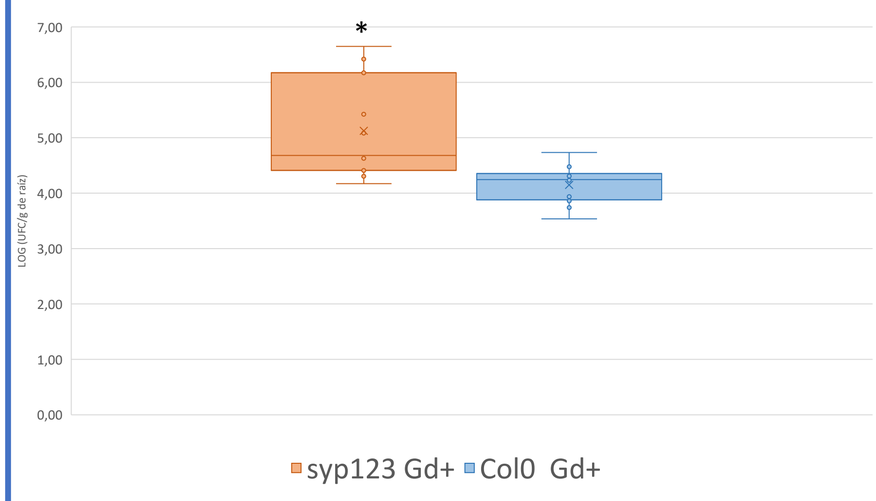
Plantas de *A. thaliana* Col-0 y mutantes *syp 123* bajo los 2 tratamientos, con *G. diazotrophicus* (Gd+) o agua estéril (Control)





Raíces de plantas de Arabidopsis procesadas con azul de anilina (A-L) e incluidas en parafina y teñidas con Safranina-*Fast Green* (M-P). Los preparados fueron observados al microscopio óptico (A-D, M-P) y al de fluorescencia (E-L). Se observaron mayor cantidad de acúmulos discretos de calosa en los pelos radicales y mayor expansión del xilema en plantas *syp123* inoculadas con *G. diazotrophicus* 28 dpi que en plantas Col0 inoculadas. X: xilema

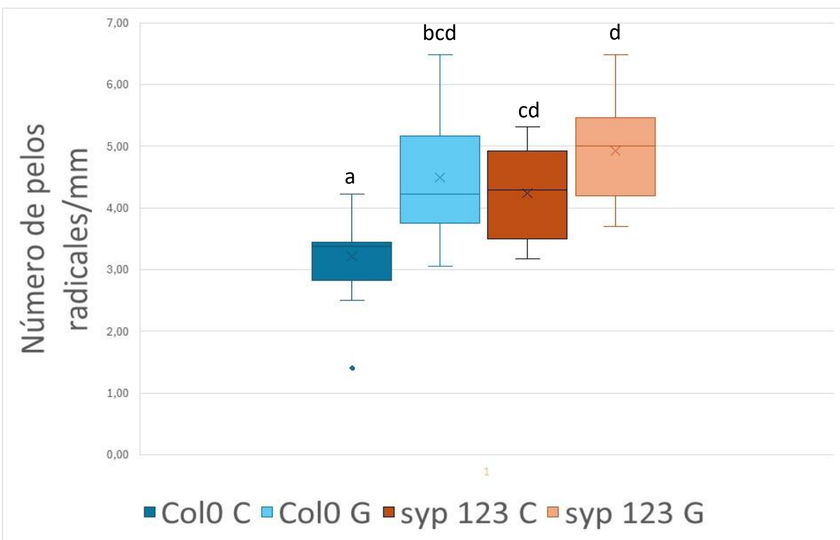
RECUENTOS BACTERIANOS CFU/g de raíz

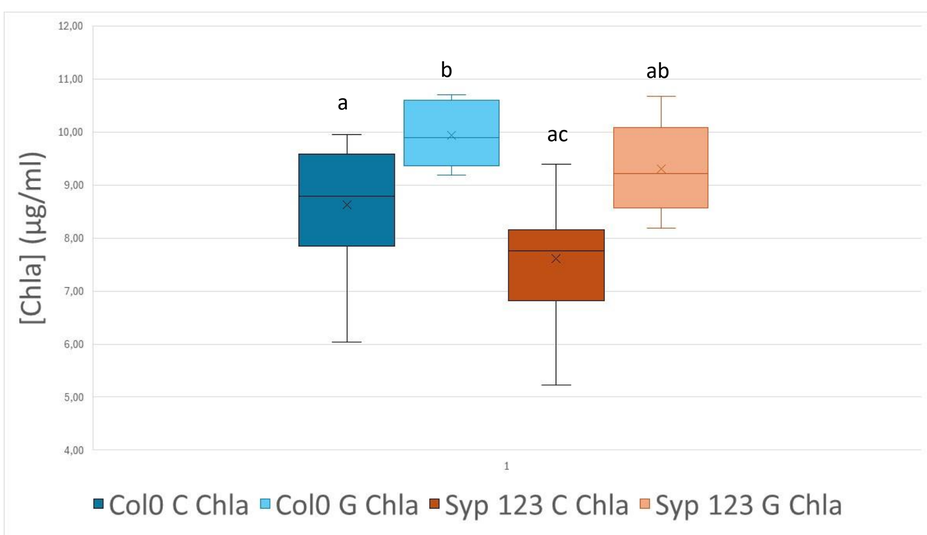


G. diazotrophicus 28 dpi (t *de Student* * *p<0,05*)

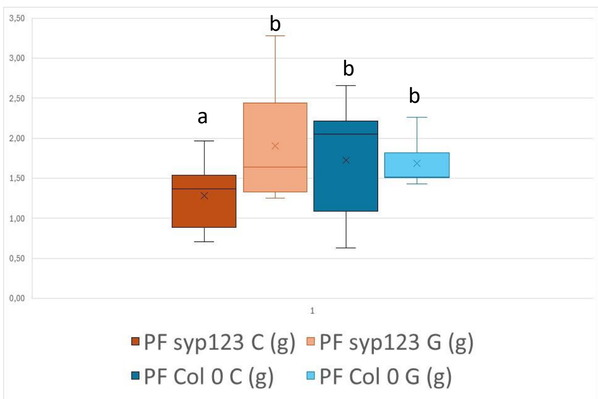
PARÁMETROS EXOMORFOLÓGICOS

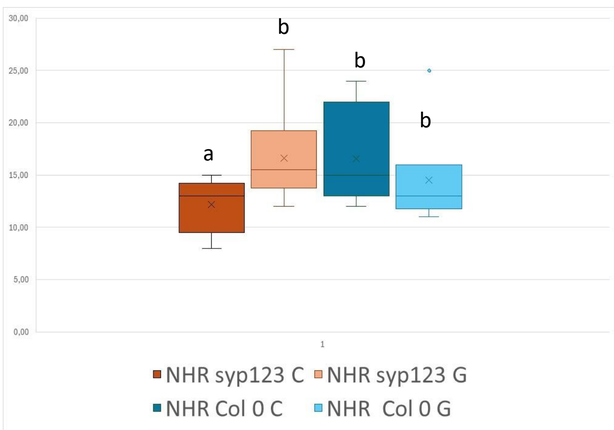
Los pelos radicales son los puntos de entrada de Gd a la planta, las plantas *syp 123* mostraron mayor cantidad por mm lineal de raíz que las plantas Col0, a su vez en ambas líneas Gd indujo su formación. Las diferencias significativas entre tratamientos se representan con letras diferentes (ANOVA, p < 0,05). Se realizaron comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey.

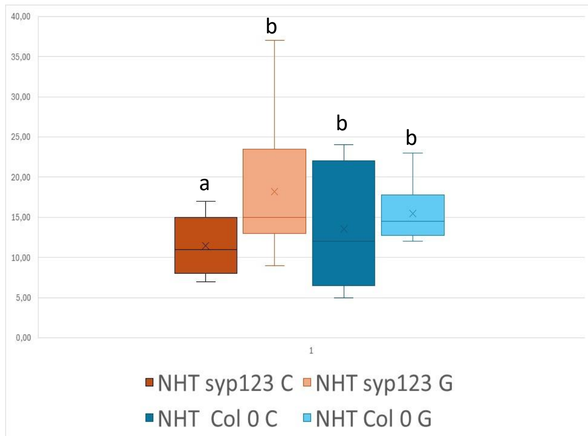




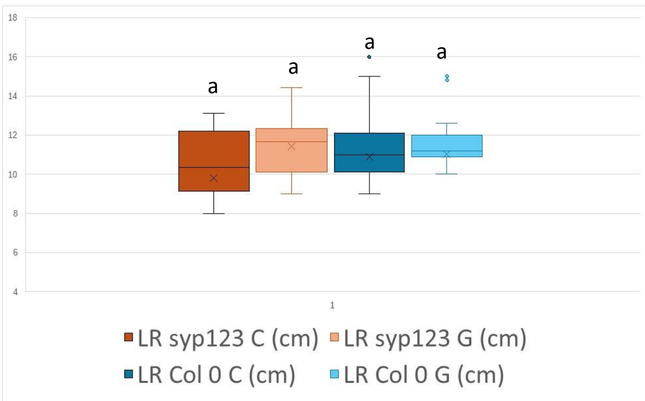
Tanto las plantas Col 0 como las *syp 123* inoculadas mostraron aumento en los valores de pigmentos respecto a las plantas control. Las diferencias significativas entre tratamientos se representan con letras diferentes (ANOVA, p < 0,05). Se realizaron comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey.

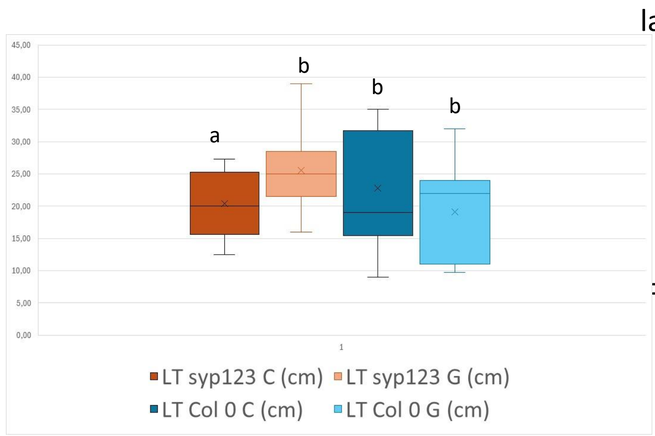






Las plantas *syp 123* inoculadas (NHRsypG:15,33±4,46; NHTsypG:18,15±7,99; LTsypG:25,89±5,68; PFsypG:1,91±0,72) mostraron diferencias significativas en la mayoría de las variables analizadas siendo todas mayores que las plantas control (NHRsypG:12,17±2,71; NHTsypG:11,34±3,75; LTsypG:20,38±5,31; PFsypG:1,28±0,41) (ANOVA, p < 0,05).





Al evaluar el peso fresco (PF, g), número de hojas de la roseta (NHR), números de hojas en el tallo (NHT), largo del tallo (LT, cm) y largo de la raíz (LR, cm), las plantas Col0 28 dpi no mostraron cambios en los parámetros exomorfológicos con respecto a las plantas control (ANOVA, p < 0,05).

Conclusiones

Estos resultados demuestran mayor actividad de Gd como bacteria promotora del crecimiento en las plantas mutantes y menos restricción de las vías de defensa activadas por esta bacteria endófita, con lo cual se confirma el rol de SYP123 en la respuesta ISR. Gd promovió la formación de papilas en pelos radicales tanto en plantas Col0 como en plantas *syp123*, observándose acúmulos discretos de calosa a lo largo de los mismos. No se observó que los acúmulos de calosa fueran de diferente tamaño en las distintas líneas de plantas, pero sí se encontró que las mutantes *syp123* presentaron un número mayor de los mismos, otro resultado que demuestra mayor interacción de esta bacteria endófita con las plantas mutantes que con las plantas Col0.

Bibliografía

1) Voigt, C.A., Schäfer, W., Salomon, S., *Plant Physiol. Biochem.*, **2006**, 44, 242-247. 2) Rodriguez-Furlán, C., Salinas-Grenet, H., Sandoval, O. et al., *Front Plant Sci.*, **2016**, 7, 1081.