RESPUESTAS FISIÓLOGICAS Y RECUPERACIÓN DE SEMILLAS MUTANTES *msh7* de ARABIDOPSIS ENVEJECIDAS Y EXPUESTAS A ESTRÉS ABIÓTICO

Giri J, Lombardo LM, Gautier M, Spampinato CP
CEFOBI (CONICET-UNR), Rosario, Santa Fe

Introducción

El sistema de reparación de apareamientos incorrectos en el ADN (MMR, del inglés mismatch repair) preserva la integridad genómica mediante la corrección de errores generados durante la replicación. Este proceso se inicia cuando proteínas homólogas a MutS (MSH, del inglés MutS Homolog) reconocen específicamente los apareamientos incorrectos de bases y los bucles de inserción o deleción.

En este trabajo, estudiamos el rol de MSH7 en la respuesta de las semillas de *Arabidopsis thaliana* durante la germinación y el envejecimiento. El ácido abscísico (ABA) inhibe la germinación y limita la acumulación de ROS, mientras que el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) actúa como una señal promotora de la germinación. Durante el envejecimiento, además, se acumulan daños moleculares que contribuyen a la pérdida de viabilidad.

Objetivos

Evaluar el rol de MSH7 en la respuesta de las semillas de *A. thaliana* frente al:

- Envejecimiento inducido.
- Estrés abiótico por ABA o H_2O_2.

Material vegetal

- Semillas de *A. thaliana* salvajes (Col-0).
- Semillas de *A. thaliana* mutantes *msh7* (línea SALK_031214).

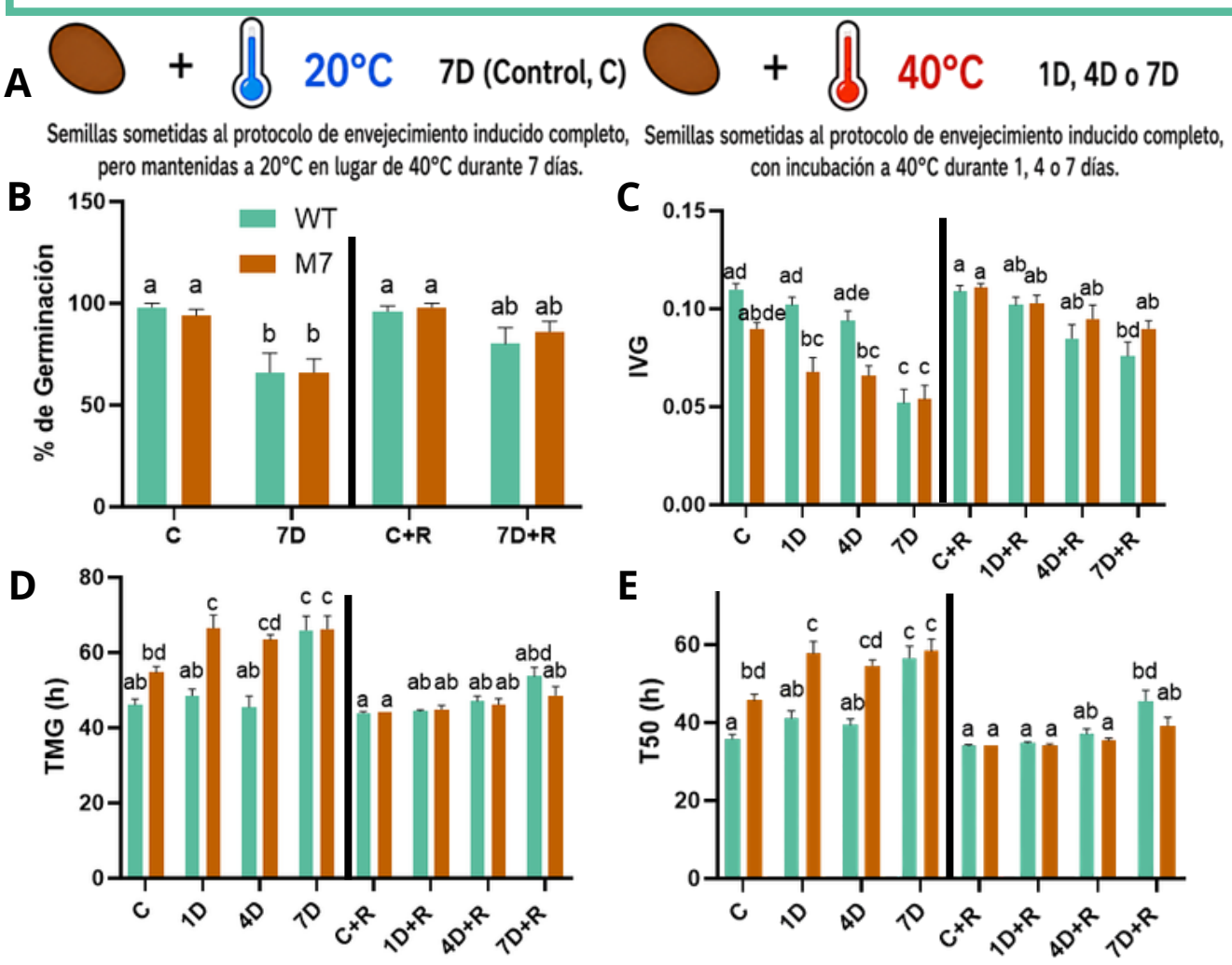
Metodología

Ensayo de envejecimiento inducido: Incluyó una etapa de equilibrio higrométrico (15 °C, 85–90% de humedad relativa, HR), seguida de una incubación a 20 °C durante 7 días (C) o una fase de envejecimiento inducido durante 1, 4 o 7 días (1D, 4D, 7D) (40 °C, 80–85 % HR) y una etapa final de recuperación bajo humedad decreciente.

Ensayo de estrés abiótico: Germinación en medio Murashige y Skoog (MS) 0,5x, suplementado con 2 µM de ABA o 4 mM de H_2O_2.

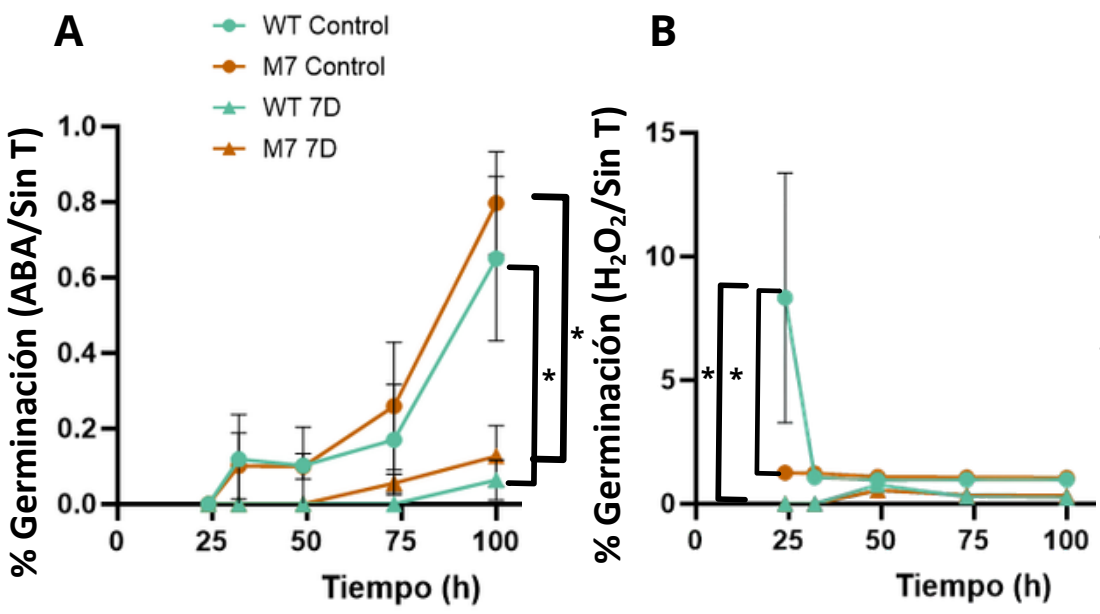
Resultados

Viabilidad de las semillas envejecidas



→ **Representación esquemática del envejecimiento acelerado (A). Porcentaje de germinación (B), índice de velocidad de germinación (IVG, C), tiempo medio de germinación (TMG, D), y tiempo necesario para que germine el 50% de las semillas (T50, E)**; de semillas WT (verde) y mutantes *msh7* (M7, marrón) envejecidas, a las 100 h desde la imbibición en presencia (+R) o ausencia de una posterior recuperación de una semana a 4 °C. Los datos representan la media ± ES de 10 réplicas biológicas; 50 semillas por genotipo por réplica. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$; ANOVA de medidas repetidas seguido de prueba post-hoc LSD de Fisher).

Respuesta germinativa de las semillas envejecidas al ABA y al H_2O_2



→ **Porcentaje de germinación medio de semillas de *A. thaliana* WT y mutantes *msh7* (M7) en condiciones control o envejecidas durante 7 días (7D), tratadas con ABA 2 µM (A) o H_2O_2 4 mM (B), normalizado con respecto al control sin tratamiento (Sin T) ± D.E.** Los datos representan tres réplicas biológicas, cada una compuesta por 20 semillas por placa (n total = 60 semillas por tratamiento). Las semillas WT y mutantes *msh7* se sembraron en la misma placa de agar para minimizar las variaciones entre placas y ambientales. La significación estadística se determinó mediante la prueba t de Student. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$ (*).

Conclusiones

- **MSH7 regula la cinética de la tolerancia al envejecimiento**: su deficiencia retrasa la velocidad de germinación bajo estrés leve/moderado (1D, 4D), pero no bajo estrés severo (7D), donde ambos genotipos responden de manera equivalente.
- **MSH7 no modula la sensibilidad a ABA ni a H_2O_2.**
- **El envejecimiento modula la respuesta a ABA, y no modula la respuesta a H_2O_2, en *msh7* y WT.**
- **El sistema MMR podría ser importante para mejorar la longevidad de las semillas.**