

EFFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO SOBRE LA ABUNDANCIA Y LA ACTIVIDAD DE LA H⁺-ATPasa DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA EN *Echinocactus grusonii* Hildm. (CACTACEAE)

Guevara-Mendoza L. F., González de la Vara, L.E.

Departamento de Biotecnología y Bioquímica. Unidad Irapuato, Cinvestav-IPN. Km 9.6 Libramiento Norte, 36821 Irapuato, Gto. Tel: (462)6239639 Fax: (462)6245996.

lgonzale@ira.cinvestav.mx

La membrana plasmática es una plataforma de señalización en la que se percibe una amplia diversidad de señales. En la membrana plasmática se encuentra la H⁺-ATPasa transportadora de protones de tipo P (Morsomme y Boutry, 2000), la cual es responsable de generar el gradiente electroquímico necesario para el intercambio de iones y metabolitos a través de la misma (Sze et al., 1999). Esta enzima es inhibida por vanadato de sodio (O'Neill y Spanswick, 1984) y por una fosforilación dependiente de calcio (Lino y González de la Vara, 1998) y su regulación a nivel molecular es afectada por salinidad y bajo potencial hídrico (Morsomme y Boutry, 2000; Suroy y Boyer, 1991).

Por otro lado, las cactáceas son notables por sus adaptaciones morfológicas y fisiológicas a la sequía (Bravo, H. y Scheinvar, L., 1999). Como otras plantas CAM, las cactáceas poseen características que disminuyen la pérdida de agua, como cutículas engrosadas y células capaces de almacenar agua (Cushman, 2001). *Echinocactus grusonii* Hildm. es una especie que habita en los matorrales xerófilos-micrófilos en Querétaro y parte de Hidalgo (Scheinvar, 2004), por lo que consideramos que es buen modelo para el estudio de los efectos del estrés hídrico. Para identificar factores asociados a la tolerancia, analizamos los cambios en la abundancia de proteínas de membrana bajo condiciones de riego óptimo y bajo condiciones de estrés, para lo cual fue necesario adecuar un método de preparación de membranas plasmáticas de *E. grusonii*. Los individuos se denominaron Cactus bien regados (WWc) y Cactus mal regados (WSc). La serie WWc fue regada una vez a la semana y la serie WSc permaneció sin riego (por 22 semanas) hasta el día de la preparación de membranas. La fracción microsomal se obtuvo con modificaciones según González de la Vara y Medina (1988) y estas membranas se centrifugaron en un gradiente continuo de sacarosa (16-40% [w/v] Sac). En cada fracción, se midió la actividad de ATPasa sensible a vanadato y esta enzima se inmunodetectó con anticuerpos anti H⁺-ATPasa de membrana plasmática de betabel.

En membranas de WWc, más del 94% de la actividad de ATPasa sensible a vanadato se encontró en membranas con una densidad media de 1.131 g l⁻¹ (1.138 g l⁻¹ en los WSc), densidades comparables a las de membranas plasmáticas de betabel (Figura 1). El estrés hídrico en *E. grusonii* tuvo como efecto principal una disminución del 43% en la actividad total de ATPasa sensible a vanadato y en la abundancia de la H⁺-ATPasa (estimada por inmunodetección). La H⁺-ATPasa de la membrana podría entonces jugar un papel importante en la respuesta al estrés hídrico. Con base en estos resultados, suponemos que una disminución en la actividad y expresión de la H⁺-ATPasa en plantas de *E. grusonii*, podría limitar la capacidad de sus células para transportar iones, agua y metabolitos a través de la membrana. Por lo tanto, consideramos que bajo condiciones de estrés, *E. grusonii* entra en un *estado de latencia*, donde el consumo de energía se reduce notablemente mediante una disminución parcial en la actividad del sistema primario de transporte iónico: las H⁺-ATPasas de la membrana plasmática.

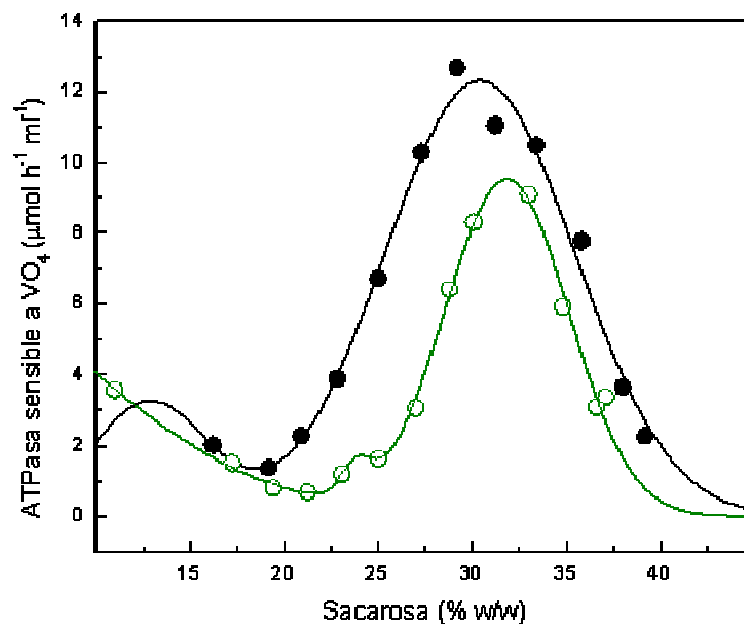


Figura 1. Actividad de ATPasa sensible a vanadato vs Concentración de sacarosa. Los puntos negros corresponden a membranas de cactus bien regados (WWc) y los círculos a membranas de cactus mal regados (WSc).

BIBLIOGRAFÍA:

- Bravo Hollis H, Scheinvar L (1999) El interesante mundo de las cactáceas. Fondo de Cultura Económica, p 39.
- Cushman, JC (2001) Crassulacean acid metabolism. A plastic photosynthetic adaptation to arid environments. *Plant Physiology* 127: 1439-1448.
- González de la Vara, Medina G (1988) Effects of inorganic phosphate on the plasma membrane H^+ -ATPase from Red Beet (*Beta vulgaris* L.). *Plant Physiology* 88:1073-1076.
- Lino B, Baizabal-Aguirre VM, González de la Vara LE (1998) The plasma membrane H^+ -ATPase from beet root is inhibited by a calcium-dependent phosphorylation. *Planta* 204: 352-359.
- Morsomme P, Bounry M (2000) The plasma membrane H^+ -ATPase: structure, function, and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1465 : 1-16.
- O'Neill SE, Spanswick RM (1984) Effects of vanadate on the plasma membrane ATPase of red beet and corn. *Plant Physiology* 75: 586-591.
- Scheinvar L (2004) Flora cactológica del Estado de Querétaro. Diversidad y riqueza. Fondo de Cultura Económica, p. 227.
- Surrowy TK, Boyer JS (1991) Low water potentials affect expression of genes encoding vegetative storage proteins and plasma membrane ATPase in soybean. *Plant Molecular Biology* 16:251-262.
- Sze H, Li X, Palmgren MG (1999) Energization of plant cell membranes by H^+ – pumping ATPases: Regulation and Biosynthesis. *The Plant Cell* 11: 677–689.