

Título: “Expresión de la enzima proteína quinasa calcio calmodulina dependiente en *brachypodium distachyon*”

Alumno/a: FERNÁNDEZ Ana Edith

Director/a: Ing. Agr. Antonio Díaz Paleo

Fecha de defensa: 29/03/2019

RESUMEN

La proteína quinasa calcio calmodulina dependiente (CCaMK) es una enzima clave en el establecimiento de las relaciones simbióticas en gramíneas y leguminosas. Se encuentra codificada en leguminosas por el gen *DMI3* (del inglés: *Does not Make Infection*) cuya expresión es imprescindible para la formación de nódulos. Se ha demostrado que, una mutante del gen con ganancia de función (del inglés: *Gain Of Function*), sin el dominio de autoinhibición de esta proteína, induce la formación espontánea de nódulos en *Lotus japonicus* y *Medicago truncatula*. En gramíneas, se pudo determinar que los ortólogos correspondientes a *DMI3* se encuentran presentes y participan en la interacción con micorrizas arbusculares (MA), siendo asimismo necesarios en el establecimiento de la relación simbiótica. Actualmente se interpreta que *DMI3* forma parte de una ruta ancestral compartida (del inglés: *Common Symbiotic Pathway*) para el establecimiento de las relaciones simbióticas con bacterias y hongos en plantas. Se estudió la expresión diferencial a nivel de transcritos en cDNA de *BdCCaMK* (proteína quinasa calcio calmodulina dependiente de *Brachypodium distachyon*) en la línea de *B. distachyon* Bd 21-3. Las extracciones de RNA, se realizaron en tres momentos del crecimiento: fase vegetativa tardía, fase de transición y fase reproductiva. Se observó un mayor nivel de transcritos en raíces que en hojas y en la fase tardía que en la de transición. No se logró cuantificar en la etapa reproductiva, por lo que se especula que la presencia de transcritos en esta etapa es muy escasa. Además, se realizó el clonado de la secuencia codificadora de *TaCCaMK* (proteína quinasa calcio calmodulina dependiente de *Triticum aestivum*) y de la región 5' de *BdCCaMK*. Ambas secuencias podrían ser utilizadas para la obtención de plantas transgénicas, con el fin de comprobar la funcionalidad en expresión heteróloga de la enzima. El estudio de la enzima, involucrada en la formación de nódulos en leguminosas sin la participación de rizobios podría contribuir a alcanzar el objetivo de expresar genes propios de la bacteria, como la enzima nitrogenasa, en plantas.