

EFFECTO DEL DÉFICIT HÍDRICO EN EL PATRÓN ELECTROFORÉTICO DE PROTEÍNAS TOTALES EN DOS VARIEDADES DE MAÍZ

DROUGHT STRESSES EFFECT ON THE ELECTROPHORETIC PATTERNS OF TOTAL PROTEINS IN TWO MAIZE VARIETIES

Néstor Espinosa-Paz^{1*}, Fernando Montiel-Aguirre² y José Luis Rodríguez-Ontiveros³†

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Campo Experimental Centro de Chiapas. 3ra. Oriente Sur No. 6 Ocozocoautla de Espinoza, Chiapas, C.P. 29140. Tel. (01) 9688-0172. E-mail: espinosa.nestor@correoweb.com. ² Departamento de Bioquímica Vegetal. Facultad de Ciencias Químicas. UNAM. Cd. Universitaria. C. P. 04510 México, D.F. Tel: (015) 622-5280. ³ Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.

* Autor responsable.

RESUMEN

En el presente trabajo se analizó el efecto del déficit hídrico en los patrones electroforéticos de proteínas totales de la raíz, tallo y hojas de las variedades de maíz Criollo Cajete y Michoacán 21 Compuesto 1-104 cultivadas en campo e invernadero. El déficit hídrico inhibió y promovió la síntesis de unas proteínas, pero la expresión de otras no fue afectada. Los patrones electroforéticos fueron diferentes entre tratamientos hídricos, variedades y órganos vegetativos. Las dos variedades mostraron mayor número de bandas proteicas cuando fueron sembradas en invernadero que en campo y en cuanto a los patrones de la hoja, en invernadero no se observaron cambios. Las bandas de proteínas encontradas en este estudio bajo déficit hídrico son semejantes en su peso molecular a las reportadas en la literatura bajo las mismas condiciones.

Palabras claves adicionales: *Zea mays*, déficit hídrico, patrones electroforéticos, variedades, proteínas, raíz, tallo, hoja.

SUMMARY

In the present work, it was analyzed the drought stresses effect on electrophoretic patterns of total protein of root, stem and leaf of "Criollo Cajete" and Michoacan 21 Compuesto 1-104. These varieties were cultivated under field and greenhouse conditions. Drought stresses inhibited and promoted synthesis of some proteins, while the expression of other proteins was not affected. The electrophoretic patterns were different among water treatments, varieties and vegetative organs. Both varieties showed more proteic bands when planted in the greenhouse than when planted under field conditions. In greenhouse condition no changes were observed in the leaf patterns of both varieties. It is concluded that the protein bands found in this study with similar molecular weight to those reported in the literature under water stresses, could be related.

Additional index words. *Zea mays*, water stresses, electrophoretic patterns, varieties, proteins, root, stem, leaf.

INTRODUCCIÓN

Un factor ambiental que afecta el crecimiento y rendimiento del maíz (*Zea mays* L.) bajo condiciones de campo, es la sequía. Ésta causa déficit hídrico en la planta y afecta algunos procesos bioquímicos, como la síntesis de proteínas (Hsiao, 1973; Dhindsa y Cleland, 1975b). Sin embargo, se conoce poco acerca del mecanismo de acción de la sequía (Dhindsa y Cleland, 1975b). Se ha informado que aplicando choques calóricos al tejido, se induce la síntesis de proteínas de choque ("heat shock protein"), aunque en estudios de laboratorio apenas se registra la síntesis de algunas de éstas. Por lo anterior, en el presente trabajo se realizaron estudios de los patrones electroforéticos de proteínas totales de la raíz, tallo y hoja, bajo condiciones de campo e invernadero, de las variedades de maíz Criollo Cajete y Michoacán 21 Compuesto 1-104, que han mostrado cierta resistencia a sequía.

REVISIÓN DE LITERATURA

Todos los tipos de estrés causan alteraciones en la expresión de genes, las cuales se manifiestan en la inducción o represión de proteínas expresadas en condiciones normales. El déficit hídrico inhibe la incorporación de aminoácidos en las proteínas (Ben-Zioni *et al.*, 1967; Nir *et al.*, 1970), y causa disminución del contenido de proteínas en el tejido (Shah y Loomis, 1965; Scutte y Todd, 1969). Bewley y Larsen (1980), estudiando tejido madu-

ro de mesocotilos de maíz, y Scott *et al.* (1979) en tejidos de coleoptilos de soya, encontraron que éstos no perdieron polirribosomas cuando se sometieron a déficit hídrico letal. Por el contrario, Hsiao (1970) y Scott *et al.* (1979) en coleoptilos de soya en crecimiento, encontraron pérdida total de polirribosomas.

Bewley *et al.* (1983) estudiaron los cambios en los patrones de síntesis de proteínas en secciones en crecimiento y sin crecimiento en mesocotilos de plántulas de maíz, y encontraron que en ambos tejidos se redujo la síntesis de proteínas al pasar de un potencial hídrico de -0.5 a -1.0 MPa. Los segmentos sin crecimiento sometidos a estrés mostraron un patrón de síntesis diferente al del control, y fue notable la reducción de la síntesis de algunas proteínas, aunque otras la intensificaron. Durante el periodo de recuperación después del estrés, el patrón de síntesis de proteínas fue rápidamente igual al del control. Estos mismos autores encontraron también que unas cuantas proteínas incrementaron su concentración en déficit hídrico, mientras que otras se mantuvieron sin cambio durante 24 horas después del riego de recuperación, lo que atribuyeron a que el tejido aun no había alcanzado una recuperación completa. Con base en estos resultados los autores concluyeron el estrés hídrico provoca cambios cuantitativos en la síntesis de proteínas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento de campo

Se estableció en terrenos del Campo Experimental Forestal y Agropecuario Mixteca Oaxaqueña (CEFA-MOAX), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), ubicado en el municipio de Santo Domingo Yanhuatlán, Oaxaca, México. El clima del sitio experimental es templado subhúmedo con lluvias en verano, y el suelo de textura arcillosa, con 33.0 % de capacidad de campo (CC) y 18.7 % de punto de marchitez permanente (PMP).

Las variedades incluidas en el experimento fueron: Criollo Cajete y Michoacán 21 Compuesto 1-104. El Criollo Cajete se cultiva en la región de la Mixteca Alta de Oaxaca bajo el agrosistema de 'cajete' y Michoacán 21 en el Estado de Michoacán. Ambos fueron sembradas el 20 de marzo de 1993 en tres agrosistemas: en riego normal (RN), riego-sequía (RS) y de 'cajete' (C). El diseño experimental fue parcelas divididas, distribuidas en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La parcela grande correspondió a los agrosistemas y las parcelas chicas a las variedades. La humedad en el suelo en cada agrosistema se manejó de la siguiente manera: el

de RN consistió en mantener la húmeda del suelo próxima a capacidad de campo, para lo cual se aplicaron riegos con intervalos de 8 a 10 días. En el agrosistema de RS el riego se suspendió a los 23 días después de la siembra (dds), por un periodo de 56 días hasta los 80 dds cuando se aplicó el riego de recuperación (RR) (Figura 1A); después de éste las plantas se mantuvieron con humedad edáfica cercana a CC. En el agrosistema de cajete, las plantas crecieron durante 80 dds únicamente con la humedad residual del suelo, ya que después de esta fecha se establecieron las lluvias y la humedad del suelo se mantuvo cercana a CC (Figura 1B).

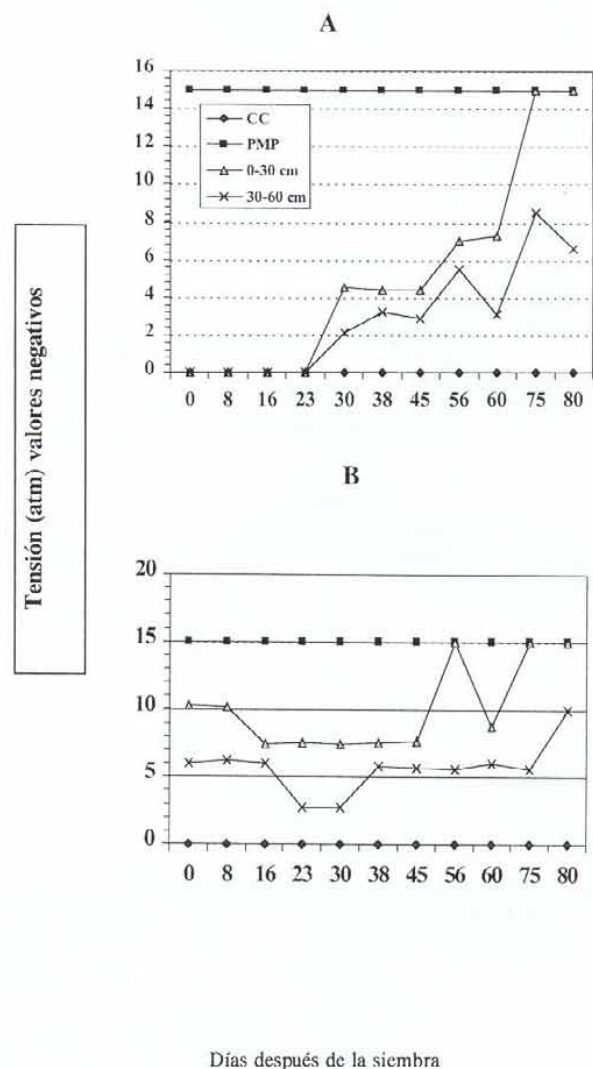


Figura 1. Tensión de humedad del suelo a dos profundidades, durante el periodo de sequía en dos agrosistemas: sequía (A) y cajete (B). Yanhuatlán, Oax. 1993.

Toma de muestras

A los 63 dds, cuando las plantas estaban en marchitez temporal (MT), se tomaron muestras de raíz, tallo y de hoja de una planta por repetición (cuatro repeticiones) de las variedades Criollo Cajete y Michoacán 21 Compuesto 1-104, en cada uno de los tres agrosistemas. Enseguida se introdujeron en nitrógeno líquido (-196°C) para después liofilizarlas y molerlas. Después se hizo una mezcla del material molido de las cuatro plantas por órgano, por variedad y por agrosistema, resultando nueve muestras por variedad, que se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su procesamiento para la proteína y realizar la electroforesis.

Extracción de proteínas

Se pesaron 40 mg de cada muestra por órgano, variedad y por agrosistema, las cuales se colocaron en tubos de centrifuga de un mL, se agregó un mL de solución amortiguadora de extracción [Tris pH 7.8, 20 mM; MgCl_2 , 5 mM; KCl, 20 mM; fenil metil sulfonil fluoruro, 1 mM; NaF, 1 mM; β -mercaptoetanol 0.5 %; Tritón, 1 %; y sacarosa 0.25 M], según Pérez *et al.* (1990)]. Esta mezcla se vació en un mortero donde se molió durante 15 minutos para romper las células y liberar las proteínas. Se centrifugó a 10 000 rpm 30 cm/sg^2) durante 10 minutos. Finalmente, se separó el sobrante de cada muestra con una micropipeta y se colocó en tubos de centrifuga los cuales se mantuvieron en congelación (-20°C) para su uso posterior en electroforesis.

Electroforesis

La separación de proteínas se realizó mediante electroforesis en geles unidimensionales de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes, de acuerdo a Laemmli (1970). El gel fue discontinuo y se formó con el gel separador y el gel concentrador de proteínas. El primero se hizo agregando las siguientes soluciones: 5 mL de agua desionizada, 126 μL de SDS (dodecil sulfato de sodio) a 10 %, 3.1 mL de solución amortiguadora para el gel separador (8x) (Tris M pH 8.8), 4.2 mL de solución de acrilamida (acrilamida, 29.2 %; bisacrilamida, 0.8 %), 150 μL de persulfato de amonio (APS) a 10 % y 10 μL de Temed (Tetra metil etilen diamina). Una vez que esta solución polimerizó se preparó el gel concentrador mezclando las siguientes soluciones: 2.85 mL de agua desionizada, 50 μL de SDS a 10 %, 1.25 mL de amortiguador para el gel concentrador 4x (Tris 0.5 M, pH 6.8), 0.85 mL de solución de acrilamida, 75 μL de APS a 10 % y 10 μL de Temed. Inmediatamente después de agre-

gar la última solución se introdujo el peine para formar los pocillos. Cuando ésta polimerizó el peine se sacó cuidadosamente observándose los pocillos, a los cuales con una microjeringa Hamilton de 20 μL se les agregó la misma cantidad de proteína de cada muestra a las que previamente se les había adicionado 5 μL de amortiguador de carga 2x (Tris 0.125 M; SDS 4 %; glicerol 20 %; β -mercaptoetanol 10 %; azul de bromofenol, 2 mg/mL), además de haberse puesto a ebullición en agua durante cinco minutos. A la cámara de electroforesis se agregó amortiguador de corrida 1X con pH de 8.3 (Tris 0.125 M; glicina 0.192 M; SDS 0.1 %), y el gel se corrió a 180 volts. Cuando el azul de bromofenol llegó al límite inferior del gel la corrida se suspendió. Finalmente, el gel se sacó cuidadosamente de los vidrios y se introdujo en una solución fijadora (etanol 30 % y ácido acético 10 % y 60 mL de agua destilada) para continuar con el proceso de tinción y revelado.

Tinción y revelado del gel

La tinción del gel se efectuó con nitrato de plata de la siguiente manera: el gel se mantuvo en agitación en la solución fijadora (30 mL de etanol; 10 mL de ácido acético y 60 mL de agua desionizada) por un mínimo de 60 minutos. Después se introdujo dos ocasiones en etanol a 30 %. Posteriormente se lavó tres veces con agua desionizada y se incubó en una solución de nitrato de plata a 0.2 % durante 30 minutos. Al término de este tiempo se lavaron ambas caras del gel con agua desionizada y se reveló con una solución de carbonato de sodio a 2.5 % más 55 μL de formaldehído. Una vez que las bandas de proteínas se observaron en los carriles de cada muestra, el revelado se suspendió con una solución de ácido acético a 1 %. Finalmente, cada uno de los geles se fotografieron con una película Polaroid 667 ASA 3000 y apertura f 8, 1/125 segundo. En estas fotografías se midió la distancia de las bandas proteicas de interés para calcular su movilidad relativa (R_f) mediante la relación entre la distancia migrada de cada banda y la distancia del frente de la corrida. Con los valores del R_f de cada banda, se buscó su peso molecular en una gráfica construida con los pesos moleculares (eje Y) de los marcadores moleculares usados y su respectivo valor de R_f (eje X). Los marcadores moleculares y su peso en kilodaltones fueron los siguientes: Albúmina bovina, 66; Albúmina de huevo, 45; Gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa, 36; anhidrasa carbónica, 29; Tripsinógeno, 24; inhibidor de tripsina, 20.1 y alfa lactalbúmina, 14.2.

Experimento en invernadero

Se estableció el 10 de junio de 1992 en el invernadero del área de Resistencia a Sequía del Colegio de Postgraduados en Montecillo, Edo. de México. Se utilizó un suelo de textura franco arenosa, con capacidad de campo (CC) de 11.57 % y punto de marchitez permanente (PMP) de 5.13 %. Se estudiaron las mismas variedades que en el experimento de campo.

Los tratamientos de humedad en el suelo fueron:

Riego normal (RN). Las plantas crecieron con humedad del suelo próximo a capacidad de campo durante todo su ciclo de vida, lo cual se controló pesando las bolsas cada tercer día y agregando agua cuando era necesario.

Sequía. Consistió en suspender el riego a los 40 dds hasta que las plantas llegaron a marchitez permanente (MP) (siete días después de la suspensión del riego). Un día después de MP se aplicó un riego de recuperación (RR).

Toma de muestras

Cuando las plantas llegaron a MP y un día después del riego de recuperación se tomaron muestras de raíz, tallo y hoja y se introdujeron en nitrógeno líquido (-196 °C) para posteriormente liofilizarlas y molerlas para la extracción de proteína por electroforesis.

Extracción de proteínas

Ésta se efectuó de manera diferente a la descrita para las muestras de los experimentos de campo, ya que al repetir la misma metodología no se observaron bandas proteicas definidas. Se pesaron 20 mg de material molido por muestra y se colocaron en tubos Eppendorf, agregándose a cada muestra un mL de solución amortiguadora de extracción 1X (Tris pH 6.8, 125 mM, SDS a 1 %, β -mecatoetanol 5 %) y se colocaron en agua a ebullición por cinco minutos. La mezcla se homogenizó en un agitador vórtex y se centrifugó a 10 000 rpm (30 cm/sg²) durante 10 minutos. El sobrenadante se separó con una micropipeta en tubos Eppendorf limpios y se guardó en congelación (-20 °C) para posteriormente realizar la electroforesis. La electroforesis, tinción y revelado del gel fueron hechos con la misma metodología que para los experimentos de campo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los patrones electroforéticos de la raíz, tallo y de la hoja afectados en geles unidimensionales de poliacrilamida se muestran en las Figuras 2A y 2B para la variedad Criollo Cajete y Michoacán 21 Compuesto 1-104, respectivamente. El análisis de algunas bandas proteicas así como su comportamiento se presentan en el Cuadro 1 para la primera variedad, y en el Cuadro 2 para la segunda. En cada gel se observa que hubo diferencias entre los patrones electroforéticos de cada agrosistema, variedad y órgano vegetativo. La síntesis de algunas proteínas fue inhibida al pasar de la condición del agrosistema de riego al de sequía y al de cajete; mientras que otras bandas de proteínas en la raíz y en el tallo sólo fueron sintetizadas en el de cajete (déficit hídrico severo). En este mismo, la variedad Criollo Cajete (Figura 2A) no mostró bandas definidas de proteínas en la hoja. Algunas bandas que aparecieron bajo condiciones de marchitez temporal (MT) en los agrosistemas de sequía y cajete, se mantuvieron aproximadamente 24 horas después de la aplicación del riego de recuperación.

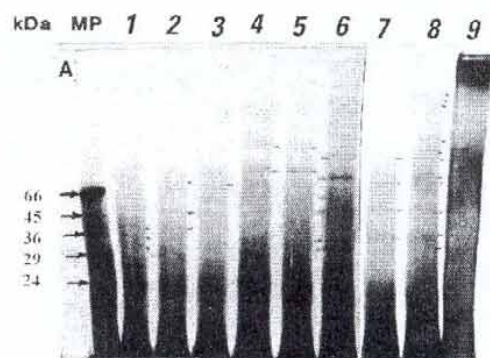
Algunas respuestas de la planta a los diferentes tipos de estrés es mediante la alteración de la expresión de genes que codifican a varias proteínas. Es posible que éstas, inducidas por el estrés, permitan a la planta efectuar ajustes bioquímicos y estructurales para enfrentarse a éste, como lo propusieron Dhindsa y Cleland (1975 a). Los geles de poliacrilamida de las Figuras 1A y 2B y los resultados mostrados en los Cuadros 1 y 2 para las variedades Criollo Cajete y Michoacán 21 Compuesto 1-104, respectivamente, para condiciones de campo y en los geles de las Figuras 3A y 3B y en los Cuadros 3 y 4 para estas mismas variedades, respectivamente, bajo condiciones de invernadero, muestran que el déficit hídrico inhibió la síntesis de proteínas con peso molecular de: 48.5, 80, 74, 72.5, 71, 22.5, 37.5, 35, kilodaltones (kDa) y promovió la síntesis de las de peso molecular de: 37.5, 27, 30, 38, 34, 30, 28, 72, 62, 28.5, 22.5, 20.3, 27, 49, 41.5, 86, 68, 55.5, 49, 37.5, 34, 165, 155, 147.5, 106, 92, 70, 39, 167, 150, 137, 120, 110, 97, 49, 147, 125, 42, 107, 83, 56, 30. Sin embargo, las bandas de proteínas con los siguientes pesos moleculares estuvieron presentes tanto en riego como en sequía: 68, 92, 75, 86, 68, 61.5, 50.5, 147, 35, 115, indicando que el estrés no afectó la síntesis de éstas.

Cuadro 1. Peso molecular de las bandas protéicas de tres órganos vegetativos observadas en la variedad Criollo Cajete cultivada en tres agrosistemas (riego, sequía y cajete). Yanhuatlán, Oax., 1993. (Figura 2A).

Órgano vegetativo	Peso molecular (kDa)	Comportamiento
Raíz	68	Presente en riego y en sequía
	49	Presente únicamente en sequía
	41.5	Presente en riego y se incrementa ligeramente en sequía
Tallo	37.5, 35	Presentes únicamente en riego
	92, 75	Presentes en riego y en sequía
	86, 68, 55.5,	Presentes únicamente en cajete
Hoja	49, 37.5, 34	Presentes únicamente en sequía
	165, 155, 147.5,	Presentes únicamente en sequía
	106, 92, 70, 39	Presentes únicamente en sequía
Hoja	86, 68, 61.5,	Presentes en riego y en sequía
	50.5	Presentes en riego y en sequía

Estos resultados coinciden con los de Dhinsa y Cleland (1975 a) y además, muestran que un mayor número de bandas protéicas se expresaron en condiciones de estrés hídrico, lo cual pudiera estar relacionado con la resistencia a la sequía que han mostrado en campo estas variedades. Una de las razones por las que se afirma que ocurre lo primero, es porque a nivel experimental se ha encontrado que se inhibe la incorporación de aminoácidos radiactivos dentro de las mismas (Ben-Zioni *et al.*, 1967; Nir *et al.*, 1970); por ejemplo, la incorporación la leucina radioactiva en coleoptilos de avena (*Avena fativa*) (Dhindsa y Cleland, 1975a). Una posible explicación a estos resultados podría estar relacionada con lo que señalan Bewley y Larsen (1980) en el sentido de que la capacidad del tejido de la planta para conservar los polirribosomas bajo déficit hídrico, de alguna forma está vinculada con su resistencia a la sequía, de manera que los tejidos o plantas más resistentes pueden continuar la síntesis de proteínas en tales condiciones.

Entre los órganos estudiados también se observaron diferencias en cuanto al número de bandas y al comportamiento de éstas en las diferentes condiciones hídricas. La presencia de las mismas bandas de proteínas en MT, MP y aproximadamente 24 horas después del riego de recuperación, pero que no se manifestaron en riego normal, indica que probablemente la planta todavía no había alcanzado su completa recuperación, ya que las muestras se tomaron un día después de aplicar dicho riego. Estos resultados concuerdan con los que encontraron Bewley *et al.* (1983) en mesocotilos de maíz en condiciones de



1. Raíz, agrosistema riego
 2. Raíz, agrosistema sequía
 3. Raíz, agrosistema cajete
 4. Tallo, agrosistema riego
 5. Tallo, agrosistema sequía
 6. Tallo, agrosistema cajete
 7. Hoja, agrosistema riego
 8. Hoja, agrosistema sequía
 9. Hoja, agrosistema cajete
- MP: Marcador de peso molecular
kDa: kiloDaltones

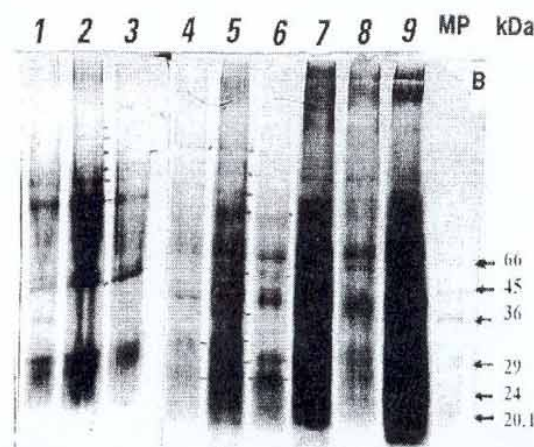
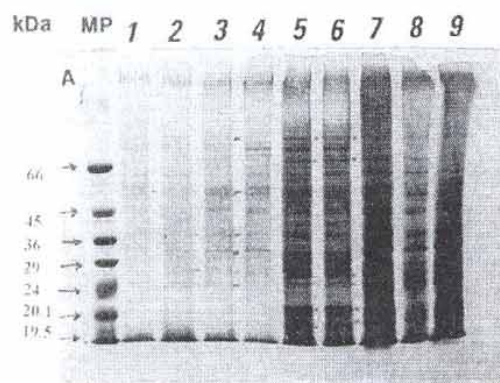


Figura 2. Patrones electroforéticos de proteínas de dos variedades de maíz: Criollo Cajete (A) y Michoacán 21 Comp. 1-104 (B), cultivadas en tres agrosistemas; riego, sequía y cajete. Yanhuatlán, Oax. 1993.

laboratorio. En cuanto a las bandas de proteínas con un peso molecular de 27 y 70 kDa encontradas en este estudio, se considera que es posible que estén relacionadas con la familia de proteínas producidas por choque calórico (hsp) del mismo peso molecular que reportaron Czarnecka *et al.* (1984) y Heikila *et al.*

EFFECTO DEL DÉFICIT HÍDRICO EN PROTEÍNAS DE MAÍZ

(1984) para maíz y soya respectivamente, bajo condiciones de déficit hídrico, ya que en todas las partes de la planta de maíz, con excepción del polen germinado, se sintetizan este tipo de proteínas (Altschuler y Mascareñas, 1982; Gerlach *et al.*, 1982).



1. Raíz en riego
 2. Raíz en marchitez permanente
 3. Raíz en riego de recuperación
 4. Tallo en riego
 5. Tallo en marchitez permanente
 6. Tallo en riego de recuperación
 7. Hoja en riego
 8. Hoja en marchitez permanente
 9. Hoja en riego de recuperación
- MP: Marcador de peso molecular

kDa: KiloDaltones

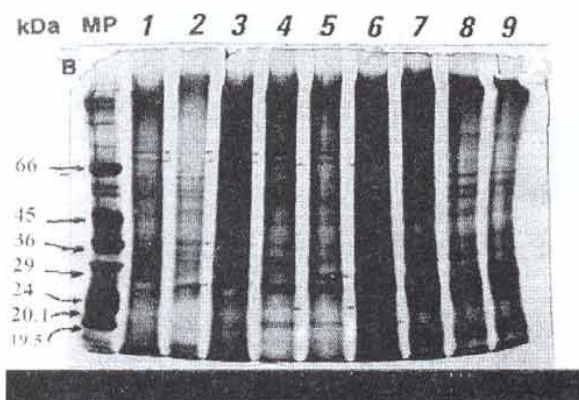


Figura 3. Patrones electroforéticos de proteínas de dos variedades de maíz: Criollo Cajete (A) y Michoacán 21 Comp. 1-104 (B), cultivadas en invernadero bajo dos condiciones hídricas (riego, sequía). Montecillo, Méx. 1992.

En relación con la familia de las hsp 70, se han identificado nueve miembros que difieren en la composición de sus aminoácidos y en su localización celular (Ali y Banu, 1991). Las proteínas hsp 70 son inducidas por muchos tipos de estrés (Van Breusegem *et al.*, 1994). Por su parte, Herschkovitz *et al.* (1991)

Cuadro 2. Peso molecular de las bandas proteicas de tres órganos vegetativos, observadas en la variedad de maíz Michoacán 21 compuesto 1-104 cultivada en tres agrosistemas (riego, sequía y cajete). Yanhuatlán, Oax., 1993 (Figura 2 B).

Órgano Vegetativo	Peso molecular (kDa)	Comportamiento
Raíz	167, 150, 137, 120	Se observan con mayor intensidad en el agrosistema de sequía que en el de riego.
	110, 97	Se observan con mayor intensidad en el agrosistema de sequía que en el de riego y en el de cajete.
	49	Se observa con mayor intensidad en los agrosistemas de sequía y de cajete que en el de riego.
	35	Presente en riego normal y en sequía, observándose con mayor intensidad en sequía.
Tallo	147	Presentes sólo en el agrosistema de sequía.
	125, 42	Presentes en los agrosistemas de sequía y de cajete, observándose con mayor intensidad en sequía.
	107, 83, 56	Presente en riego normal y en el agrosistema de sequía pero con mayor intensidad en sequía.
	30	Presente en los agrosistemas de sequía y de cajete pero con mayor intensidad en sequía.
Hoja	115	Presente en los agrosistemas de riego, sequía y cajete

Cuadro 3. Peso molecular de las bandas proteicas de tres órganos vegetativos observados en la variedad de maíz Criollo Cajete, cultivada en invernadero en dos condiciones hídricas (riego, sequía). Montecillo, México. 1992 (Figura 3 A).

Órgano vegetativo	Peso molecular (kDa)	Comportamiento
Raíz	71	Presente sólo después del riego de recuperación
	48.5	Presente en riego normal, disminuye su intensidad en marchitez permanente y la incrementa después del riego de recuperación.
	38	Aparece en MP, aumenta ligeramente su intensidad después del RR.
	34	Se observa en riego, se acentúa más en MP y se mantiene después del RR.
	30, 28	Presentes en MP y se mantienen después del RR.
Tallo	72	Presente ligeramente en riego, se intensifica en MP y se mantiene en RR
	62, 28.5, 22.5,	Presente en MP y se mantienen después del RR
	20.3	

MP = marchitez permanente; RR = riego de recuperación.

Cuadro 4. Peso molecular de las bandas proteicas de tres órganos vegetativos, observadas en la variedad de maíz Michoacán 21 Compuesto 1-104 cultivada en invernadero bajo en condiciones hídricas (riego y sequía). Montecillo, México, 1992 (Figura 3 B).

Órgano vegetativo	Peso molecular (kDa)	Comportamiento
Raíz	80, 74	Presentes en riego, disminuyen su intensidad en MP y se mantienen después del RR
	49	Presente sólo en MP
	37.5	Presente sólo en MP
	27	Presente en MP y se mantiene después del RR
Tallo	72.5, 22.5	Presente en riego y en RR
	30	Presente en MP y se mantiene después del RR

MP = marchitez permanente; RR = riego de recuperación.

reportan que la sequía indujo la presencia de polipéptidos de 30 kDa localizados en las membranas de los tilacoides y de 45 kDa presentes en la membrana celular de cianobacterias. En plántulas de *Spinacia oleraceae* una pequeña disminución del contenido de agua en el tejido indujo la acumulación de proteínas de 160 y 85 kDa (Guy *et al.*, 1992). En plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*), Chen y Tabacizadeh (1992) señalan que bajo condiciones de sequía dos proteínas fueron acumuladas y después del riego de recuperación desaparecieron.

El único estudio sobre maíz es el reportado por Ristic *et al.* (1991), donde la línea de maíz ZPBL 1304 resistente al calor y a sequía, sintetizó una banda de hsp de aproximadamente 45 kDa. En el presente estudio también se presentaron proteínas en pesos moleculares 49, 42 y 39 kDa relacionadas con los agrosistemas de sequía o cajete. La función de las proteínas sintetizadas en diferente tipo de estrés no está clara. En plántulas tolerantes a sequía de *Pinus ponderosa*, Vance *et al.* (1990) sugieren que la síntesis de algunas proteínas inducidas por el déficit hídrico puede contribuir a dar resistencia a las células contra la deshidratación.

Finalmente, debido a que en la literatura no se encontraron estudios sobre la síntesis de proteínas bajo condiciones de campo e invernadero en maíz y en otras especies, este trabajo se considera pionero. De tal manera que las aportaciones pueden servir de base para el planteamiento de futuras investigaciones en el campo de la biotecnología con miras al mejoramiento genético de la resistencia a la sequía de las plantas cultivadas, identificando genes favorables para la formación de plantas transgénicas.

CONCLUSIONES

El déficit hídrico indujo la síntesis de algunas proteínas, como las de peso molecular de 49, 41.5, 86, 68, 55.5, 49, 37.5, 34, 165, 155, 147.5, 106, 92, 70, 39, 167, 150, 137, 120, 110, 97, 125, 42, 107, 83, 56, 37.5, 27, 38, 30, 28, 72, 62, 28.5, 22.5 y 20.3 kilodaltones.

La síntesis de algunas proteínas como las de peso molecular de 147, 35, 115, 68, 41.5, 92, 75, 86, 68, 61.5, 50.5, 34, 72, 27, 80 y 74 kilodaltones, no fue afectado por dicho déficit.

Los patrones electroforéticos de proteínas fueron diferentes entre las diferentes condiciones hídricas, variedades y órganos vegetativos.

Un mayor número de bandas proteicas fueron observadas en los órganos vegetativos de las dos variedades bajo estudio, cuando fueron cultivadas en invernadero.

Algunas proteínas encontradas en este estudio, de peso molecular semejante a las reportadas en la literatura para maíz y otras especies, pudieran estar relacionadas con la tolerancia de esta especie al déficit hídrico.

BIBLIOGRAFÍA

- Ali, N. and N. Banu. 1991. Heat shock proteins: molecular chaperones. *Biochemical Education* 19: 166-172.
- Altschuler, M. and J.P. Mascarenhas. 1982. Heat shock protein and effects of heat shock in plants. *Plant. Mol. Biol.* 1: 103-115.
- Ben-Zioni, A., C. Itai, and Y. Vaadia. 1967. Water and salt stresses, kinetin and protein synthesis in tobacco leaves. *Plant Physiol.* 42: 361-365.
- Bewley, J.D. and K.M. Larsen. 1980. Cessation of protein synthesis in water-stressed pea roots and maize mesocotyls without loss of polyribosomes. Effects of lethal and non-lethal water stress. *J. Exp. Bot.* 31: 1245-1256.
- Bewley, J.D., K.M. Larsen, and E.T. Papp. 1983. Water-stress-induced changes in the pattern of protein synthesis in maize seedling mesocotyls: A comparison with the effects of heat shock. *J. Exp. Bot.* 34 (146): 1126-1133.
- Chen, R.D. and Z. Tabacizadeh. 1992. Alteration of gene expression in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) by drought and salt stress. *Genome* 35: 385-391.
- Czarnecka, E., L. Edelman, F. Schöffl, and J.L. Key. 1984. Comparative analysis of physical stress responses in soybean seedling using cloned heat shock cDNAs. *Plant Mol. Biol.* 3: 45-58.
- Dhindsa, R.S. and R.E. Cleland. 1975a. Water stress and protein synthesis: I. Differential inhibition of protein synthesis. *Plant Physiol.* 55: 778-781.
- . 1975b. Water stress and protein synthesis. II. Interaction between water stress, hydrostatic pressure, and abscisic acid on the pattern of protein synthesis in *Avena coleoptiles*. *Plant Physiol.* 55: 782-785.
- Gerlach, W.L., A.J. Yor, E.S. Dennis, R.J. Ferl, M.M. Sachs, and W.J. Peacock. 1982. cDNA cloning and induction of the alcohol

- deshydrogenase gene (Adhl) of maize. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 79: 2981-2985.
- Guy, C., D. Haskell, L. Neven, P. Klein, and C. Smelser. 1992. Hydration-state-responsive proteins Link cold and drought stress in spinach. Planta 188: 265-270.
- Heikila, J.J., J.E.T Papp, G.A. Shultz, and J.D. Bewley. 1984. Induction of heat shock protein messenger RNA in maize mesocotyls by water stress, abscisic acid and wounding. Plant Physiol. 76: 270-74.
- Hershkovitz, N., A. Post, and Y. Cohen 1991. Induction of water-stress protein in cyanobacteria exposed to matric or osmotic water stress. FEMS Microbiol. 83: 169-172.
- Hsiao, T.C. 1970. Rapid changes in levels of poliribosomes in *Zea mays* in response to water stress. Ibid. 46: 281-285.
- Hsiao, T.C. 1973. Plant response to water stress. Ann. Rev. Plant Physiol. 24: 519-570.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 17: 680-685.
- Nir, L., A. Poljakoff-Mayber, and S. Klein. 1970. The effect of water stress on the polysome population and the ability to incorporate amino acid in maize root tips. Israel J. Bot. 19: 451-462.
- Pérez, L., R. Aguilar, A. Pérez M., y E. Sánchez. 1990. Phosphorylation of ribosomal proteins induced by auxins in maize embryonic tissues. Plant Physiol. 94: 1270-80.
- Ristic, Z., D.J. Gifford, and D.D. Cass. 1991. Heat shock protein in two Lines of *Zea mays* L. that differ in drought and heat resistance. Plant Physiol. 97: 1430-1434.
- Scott, N.S., R. Munns, and E.W. R. Barlow. 1979. Polyribosomes content in young and aged wheat leaves subjected to drought. J. Exp. Bot. 30: 905-11.
- Scutte, C.A. and G.W. Todd. 1969. Some enzyme and protein changes associated with water stress in wheat leaves. Crop Sci. 9: 510-512.
- Shah, C.B. and R.W. Loomis. 1965. Ribonucleic acid and protein metabolism in sugar beet during drought. Plant Physiol. 18: 240-254.
- Van-Breusegem, F., R. Dekeyser, A.B. García, B. Claes, J. Gielen, M. Van-Montagu, and A.B. Caplan. 1994. Heat-inducible hsp82 and hsp70 are not always co-regulated. Planta 193:57-66.
- Vance, N.C. , D.O. Copes, and J.B. Zaerr. 1990. Differences in proteins synthesized in needless of unshaded and shaded *Pinus ponderosa* var *Scopulorum* seedlings during prolonged drought. Plant Physiol. 92: 1244-1248.